BAND 22, HEFT 1 JULI 1954

# PHYTOPATHOLOGISCHE ZEITSCHRIFT

Begründet von Prof. Dr. E. Schaffnit

*Unter Mitwirkung von*

Prof. Dr. E. Baldacci-Mailand, Prof. Dr. H. Braun-Bonn, Prof. Dr. W. B. Brierley-Reading, Prof. Dr. Takewo Hemmi-Kyoto, Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler-Braunschweig, Prof. Dr. K. O. Müller-Canberra, Prof. Dr. H. M. Quanjer-Wageningen, Prof. Dr. Tr. Savulescu-Bukarest, Prof. Dr. E. C. Stakman-St. Paul

*herausgegeben von*

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner
Braunschweig

Prof. Dr. E. Gäumann
Zürich

Prof. Dr. M. Klinkowski
Aschersleben

Mit 29 Abbildungen

1954

PAUL PAREY IN BERLIN UND HAMBURG

*Phytopath. Z. Bd. 22,* Heft 1, *S. 1—124, Berlin 1954*

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
30 AUG 1954

# INHALT

**Abhandlungen**


HENNIGER, H., Untersuchungen zur Entwicklung und Variabilität von *Pseudopeziza tracheiphila* Müller-Thurgau. (Mit 17 Abb.) ..... 1

GROSSMANN, F., Das saprophytische und parasitische Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. unter dem Einfluß verschiedener Fruchtfolgepflanzen und -maßnahmen .. 35

ZOGG, H., Methode zur laboratoriumsmäßigen Bestimmung der Fernwirkung von Getreidebeizmitteln. (Mit 2 Abb.) ..... 71

ZOGG, H., Untersuchungen über Hagelschäden. IV. Roggen. (Mit 4 Abb.) ..... 76

SCRIVANI, P., Patogenesi, riproduzione sperimentale del mal secco da *Deuterophoma tracheiphila* Petri e ricerche sulla formazione di metaboliti tossici in cultura. (5 Figure) ..... 83

GASSNER, G. und NIEMANN, E., Über die Infektion von Weizen und Roggen durch verschiedene *Tilletia*-Arten. (Mit 1 Abb.) ..... 109


---

**Manuskripte:** In deutscher, englischer, französischer oder italienischer Sprache abgefaßte Originalarbeiten werden druckfertig und möglichst in Schreibmaschinenschrift erbeten. Aufnahme von Tabellen und Abbildungen unterliegt jeweils vorheriger Vereinbarung.

„Kurze Mitteilungen" sind solche Veröffentlichungen in den vorerwähnten Sprachen, die im allgemeinen einen Umfang von vier Druckseiten nicht übersteigen. Sie erscheinen möglichst schon im nächsten Heft.

Die „Besprechungen" erscheinen nur in deutscher Sprache.

**Schriftleitung:** Prof. Dr. Dr. h. c. Gassner, Braunschweig, Humboldtstr. 1, Professor Dr. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2, und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52.

Zusendung der Manuskripte von Originalarbeiten und „Kurzen Mitteilungen" entweder an den Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstraße 44/47, oder an einen der drei Herausgeber.

Zusendung der „Besprechungen" unmittelbar an Prof. Gassner, Braunschweig. Soweit nicht eine Aufforderung der Herausgeber zur Besprechung bestimmter Arbeiten ergangen ist, empfiehlt es sich, Prof. Gassner vorher von der Absicht der Besprechung zu verständigen.

**Honorierung:** Das Mitarbeiterhonorar für Originalarbeiten und „Kurze Mitteilungen" beträgt 32,— DM je Druckbogen von 16 Seiten. Bei Beiträgen von mehr als drei Bogen werden nur die drei ersten Bogen honoriert; Dissertationen sind honorarfrei. Honorar für die „Besprechungen" 48,— DM je Druckbogen.

**Sonderdrucke:** Jeder Mitarbeiter erhält unberechnet 20 Sonderdrucke seines Beitrages (Originalarbeiten und Kurze Mitteilungen). Mehrbedarf gegen Berechnung.

**Erscheinungsweise:** Die Zeitschrift erscheint in zwangloser Folge. Jährlich erscheinen etwa 6 bis 8 Hefte, von denen 4 einen Band bilden. Jeder Band enthält etwa 30 Druckbogen.

**Bezugsbedingungen:** Der Preis des Bandes richtet sich nach dem Umfang. Er beträgt je Druckbogen von 16 Seiten etwa 3,— DM. Die Hefte sind auch einzeln käuflich. Das Abonnement verpflichtet zum Bezug eines ganzen Bandes. Es verlängert sich jeweils, falls nicht spätestens unverzüglich nach Eingang der letzten Lieferung des berechneten Bandes Abbestellung erfolgt.

---


**Abonnementspreis dieses Heftes 24,— DM** **Einzelpreis 26,— DM**

*Aus dem*
*Institut für allgemeine Botanik der Friedrich-Schiller-Universität Jena*
*und der Biologischen Zentralanstalt*
*der Deutschen Akademie der Landwirtschaftswissenschaften zu Berlin,*
*Institut für Phytopathologie Naumburg*
*Direktor: Prof. Dr. Hans Wartenberg*

# Untersuchungen zur Entwicklung und Variabilität von *Pseudopeziza tracheiphila* Müller-Thurgau[1])

Von

Hans Henniger

*Mit 17 Abbildungen*

Inhalt: A. Einleitung. — B. Methodik; 1. Herkunft des Pilzmaterials, 2. Gewinnung von Rein- und Einsporkulturen. — C. Entwicklung und Bau der Apothecien; 1. Die Bedingungen der Apothecienbildung auf dem Rebblatt, 2. Die Entwicklung der Fruchtkörper, 3. Apothecienbildung auf künstlichen Substraten. — D. Wachstum und Ernährung; 1. Formenanalyse der Stämme, 2. Der Einfluß von Wirkstoffen auf das Wachstum, 3. Die Veränderung der physikochemischen Umweltbedingungen. — E. Besprechung der Ergebnisse. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

## A. Einleitung

Der Ascomycet *Pseudopeziza tracheiphila* ist der Erreger des „Roten Brenners", einer Blattfleckenkrankheit des Weinstockes (Abb. 1). Als erster beschrieb Müller-Thurgau (1903) den Pilz, der in den Blattgefäßen wächst und deshalb schwer aufzufinden war. Zuvor bestand die Ansicht, daß der Rote Brenner eine Schädigung durch ungünstige Umweltbedingungen sei.

Systematisch stellte Müller-Thurgau den Pilz zur Gattung *Pseudopeziza* Fuck., Familie der Mollisieen. Nannfeldt (1932) lehnt eine Zugehörigkeit des Rotbrennerpilzes, der ihm nur aus den Beschreibungen von Müller-Thurgau bekannt war, zu dieser Gattung ab. Außer der Bemerkung, daß *Pseudopeziza tracheiphila* eine zarte Form von zweifelhafter Stellung sei, wird eine Revision der systematischen Stellung nicht gegeben.

Die Stärke des Auftretens des „Roten Brenner" ist von der Witterung sowie vom Standort abhängig und in einigen deutschen Weinbaugebieten von seuchenhaftem Charakter. Da das Myzel des Pilzes im Blattinnern parasitiert, ist eine chemische Bekämpfung nur dann erfolgreich, wenn sie im Zeitraum des Auskeimens der Ascosporen, also beim Infektionsbeginn, zur Anwendung kommt.

[1]) Auszug aus einer Dissertation der mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena.

Die Züchtung rotbrennerfester Sorten ist eine Möglichkeit, diese Schwierigkeiten zu beheben. HUSFELD und SCHERZ (1934) wollen bereits gegen *Pseudopeziza tracheiphila* unanfällige Reben gefunden haben.

Eine genaue Kenntnis der Entwicklung und der Variabilität des Pilzes kann bei der Durchführung züchterischer Aufgaben von gewissem Wert sein. Obgleich MÜLLER-THURGAU (1903, 1913) und ZILLIG und NIEMEYER (1929) diese grundlegenden Fragen schon berührten und zum Teil klärten, soll in der vorliegenden Arbeit versucht werden, einen weiteren Einblick zu bekommen.

Die Untersuchungen erstrecken sich auf das Verhalten des Pilzes unter den Bedingungen der künstlichen Kultur. In welcher Weise und in welchem Maße die Ergebnisse auf die Reaktionsweise unter natürlichen Umweltbedingungen angewendet werden dürfen, kann erst entschieden werden, wenn entsprechende Versuchsergebnisse vorliegen.

## B. Methodik

### 1. Herkunft des Pilzmaterials

Abb. 1. Typische Ausbildung einer Rotbrenner-Infektion an der Unterlagensorte „Aramon × Riparia, M. G. 143 A". Haben die Brennerflecke die auf der Abbildung vorhandene Ausdehnung erreicht, löst sich das Blatt bald ab

Das rotbrennerbefallene Reblaub stammt aus dem Unterlagenschnittgarten des Weingutes Saalhäuser bei Naumburg und aus dem Weinbaugebiet der Mosel[1]). Im Unterlagengarten „Rektorberg" des Weingutes Saalhäuser tritt der Rote Brenner regelmäßig im Herbst mehr oder weniger stark auf. Dabei handelt es sich augenscheinlich um eine Zweitinfektion. Die Erstinfektion im Frühjahr ist dort meist so schwach, daß sie kaum bemerkt wird. Erst die Ascosporen, welche sich aus den wenigen befallenen Blättern im Laufe des Sommers entwickeln, vermögen die umfangreichen Spätinfektionen hervorzurufen.

Das Abnehmen des brennerkranken Laubes geschah kurz vor dem Abfallen vom Stock im September. In diesem Zustand haben die Brennerflecke eine Ausdehnung erreicht, wie es Abb. 1 zeigt. In Bodennähe war der größte Teil der

[1]) Herr Oberregierungsrat Dr. Zillig, Institut für Weinbau der Biologischen Bundesanstalt in Bernkastel-Kues, stellte freundlicherweise mehrmals brennerkrankes Material für diese Untersuchungen zur Verfügung, wofür ich ihm nochmals meinen Dank aussprechen möchte.

Blätter befallen, doch konnten Brennerflecke in kleiner Anzahl auch noch nahe den Vegetationsspitzen gefunden werden. Viele der bodennahen Blätter wiesen nicht nur eine Infektionsstelle auf, sondern häufig mehrere. Die verschiedenen im „Rektorberg" gezogenen Unterlagen wurden alle vom Roten Brenner befallen, wenn auch in wechselnder Stärke. Die Sorte „Aramon × Riparia M.G. 143 A" war am stärksten befallen, etwas schwächeren Befall zeigten die Sorten „Berlandieri-Riparia Tel. 4 A Sel. Oppenheim" und „Berlandieri — Riparia Tel. 5 A." An der Sorte „Berlandieri — Riparia Kober 5 BB", die dicht neben der am stärksten befallenen Sorte „M.G. 143 A" stand, war dagegen kaum eine Infektion zu finden.

Die Aufbewahrung des erkrankten Materials erfolgte unter verschiedenen Bedingungen: ein Teil im Freien vor direkter Nässe geschützt, ein Teil im Kühlraum (+ 4 ° C) und ein Teil in einem geheizten Zimmer.

### 2. Gewinnung von Rein- und Einsporkulturen

Zunächst wurde geprüft, ob die fleckenkranken Blätter auch wirklich von *Pseudopeziza tracheiphila* befallen waren.

Zu diesem Zweck wurden Reinkulturen des Pilzes in ähnlicher Weise hergestellt, wie Müller-Thurgau (1903) dies bereits angegeben hat. An die Befallsflecke angrenzende Blattnerven wurden von außen gründlich mit 70 %igem Alkohol und keimfreiem Wasser gesäubert, die äußeren Gewebeschichten mit einem sterilen Skalpell entfernt und Längsschnitte durch die Gefäßbündel auf verschiedene Nährböden gebracht. Bei einem großen Teil dieser Kulturen konnte ein Herauswachsen von Pilzfäden beobachtet werden, die nach den Beschreibungen von Müller-Thurgau (1903) und Zillig und Niemeyer (1929) für *Pseudopeziza tracheiphila* charakteristisch waren. Die weitere Isolierung zur Reinkultur war schwieriger, weil sehr oft die Vitalität anderer Mikroorganismen (meist Bakterien und Hefen) stärker war und *Pseudopeziza* davon überwuchert wurde. Außerdem ergibt das gelegentliche Vorkommen mehrerer Infektionen auf einem Blatt die Möglichkeit, ein Myzel zu isolieren, das einer Einsporkultur nicht gleichzusetzen ist.

Gute Erfolge wurden mit der von Zillig und Niemeyer (1929) beschriebenen Methode erreicht, bei welcher durch das Ausschleuderungsvermögen der Asci die Ascosporen auf den Nährboden gelangen, von dem sie nach dem Auskeimen isoliert werden können. Auch bei diesen Kulturen kamen Verunreinigungen durch mitgerissene Bakterien vor.

Um zugleich Formenanalysen von Einsporkulturen durchzuführen, die aus den Ascosporen von einem Ascus bzw. auch einem Apothecium hervorgegangen waren, wendete ich folgende Methode an:

Mit einer abgeflammten Platinnadel wird unter dem Binokular ein Apothecium abgehoben. Zuvor wird auf sterile Objektträger eine etwa 1/2 mm dicke Agarlamelle (1/2 % Agar in Aqua dest.) gegossen. Je zwei dieser Objektträger werden in Petrischalen von 100 mm ⌀, deren oberer Deckel mit angefeuchtetem Filterpapier bedeckt ist, aufbewahrt. Das abgehobene Apothecium wird dann mit der Platinnadel ein bis zweimal über den Agar-Nähr-

boden gezogen bzw. gerollt und gestoßen. Infolge der Berührung entleeren die Asci ihre Sporen. Diese liegen dann zu beiden Seiten der gezogenen Bahnen, häufig die acht Sporen aus einem Ascus dicht beisammen.

Die Keimung der Ascosporen erfolgt am schnellsten auf Aqua dest.-Agar; außerdem wird auf diesem Substrat das Wachstum anderer Mikroorganismen weitestgehend unterdrückt. Nach 24 bis 48 Stunden haben die Keimfäden eine Länge von 200 bis 400 $\mu$ erreicht und können ohne sonderliche Mühe unter einem Präpariermikroskop mit spitz ausgezogenen Glasnadeln isoliert werden. Die so gewonnenen Stämme wurden auf Malzagar (4 % Malzextrakt, 0,5 % Pepton, 1 bis 2 % Agar) kultiviert. Im Zeitraum von sechs bis acht Wochen wurden alle Stämme (durch Übertragen von Myzelteilen) auf frische Nährböden überimpft.

An einem Beispiel, Op A I/3, soll die Bezeichnung der Einsporstämme erläutert werden:

Die beiden ersten Buchstaben — Op — bezeichnen die Rebsorte, von welcher der Pilz isoliert wurde. Es bedeuten:

| | | |
|---|---|---|
| Op | = Berl.-Rip., Tel. 4 A Sel. Oppenheim | Herkunft: Saalhäuser |
| Go | = Berl.-Rip., Tel. 5 A | Herkunft: Saalhäuser |
| Ge | = Aramon × Riparia, M. G. 143 A | Herkunft: Saalhäuser |
| Ru | = Ruländer | Herkunft: Mosel |
| Bs | = Später Burgunder | Herkunft: Mosel |

Der folgende große Buchstabe gibt das Blatt an, d. h. bei gleichen Buchstaben stammen die Apothecien vom selben Rebblatt. Die römische Ziffer bezeichnet das Apothecium und die Zahl nach dem Schrägstrich die Reihenfolge der isolierten Ascosporen.

## Kulturgefäße und Nährböden

Zur Kultur des Pilzes auf festem Nährsubstrat wurden hauptsächlich Petrischalen 6,0 und 10,0 cm $\phi$ verwendet. Sollte keine mikroskopische Kontrolle des Wuchsbildes erfolgen, eigneten sich Erlenmeyerkolben oder Kulturkolben nach Fernbach besser, weil in diesen der Nährboden wesentlich langsamer als in Petrischalen austrocknete. Außerdem wurden Deckglaskulturen zur fortlaufenden mikroskopischen Wuchskontrolle benutzt.

Folgende Grundnährlösungen, denen die C-Quelle und das Erstarrungsmittel, sowie Wirkstoffe je nach Bedarf zugesetzt werden konnten, kamen hauptsächlich zur Verwendung:

1. Czapek-Agar nach JANKE (1946, S. 127),
2. Raulin-Dierckx nach JANKE (1946, S. 127) mit 2 bis 3 % Agar bzw. 10 bis 15 % Gelatine.

Pflanzendekokte wurden nach einem einheitlichen Verfahren hergestellt: Die Pflanzenteile wurden bei einer Temperatur von 80 bis 90 ° C bis zur Brüchigkeit im Trockenschrank getrocknet, 20 g mit 1000 cm³ $H_2O$ eine Stunde eingequollen, danach 30 Min. aufgekocht, filtriert und sterilisiert. Die wechselnde Azidität wurde mit Sodalösung auf ein pH von 5,2 bis 5,4 eingestellt. Die Sterilisation der Nährböden erfolgte, außer bei Wirkstoffversuchen, durch Erhitzen im Autoklaven (20 Min. bei 120 ° C).

### Cytologische Untersuchungen

Die zu untersuchenden Apothecien oder auch Myzel-Agar-Stücke wurden mit dem schwachen Flemmingschen Gemisch (0,1 % Os-Säure, 0,2 % Chromsäure, 0,2 % Essigsäure) etwa 15 bis 30 Minuten fixiert, wie allgemein üblich entwässert und in Paraffin eingebettet. Zur Untersuchung der Kernverhältnisse wurden die Mikrotomschnitte 5 bis 6 $\mu$, sonst 10 bis 15 $\mu$ dick hergestellt. Gefärbt wurde mit Eisenhaematoxylin nach HEIDENHAIN und der Nuklealreaktion nach FEULGEN. Die FEULGENsche Kernfärbung zeigte den Nachteil, daß in den Dauerpräparaten die Färbung schon nach einigen Tagen verblaßte. Lebendbeobachtungen mit dem Phasenkontrast-Mikroskop dienten zur Bestätigung der an fixiertem und gefärbtem Material erzielten Ergebnisse.

## C. Entwicklung und Bau der Apothecien

### 1. Die Bedingungen der Apothecienbildung auf dem Rebblatt

Anfänglich bereitete es große Schwierigkeiten, den Pilz zur Ascosporenfruktifikation zu bringen, um Einsporkulturen von verschiedenen Herkünften anzulegen. Trotz Variation der Außenbedingungen in mannigfaltigster Art wurden keine Apothecien gebildet. Spätestens 24 Stunden nach dem Einlegen in die feuchte Kammer war das ganze Blatt dicht von verschiedenen saprophytischen Pilzen überwuchert, die anscheinend das Wachstum von *Pseudopeziza tracheiphila* vollständig unterdrückten. Das verwendete Material war im Kühlraum (etwa + 4° C) aufbewahrt worden. Wie spätere Versuche ergaben, tritt nach längerer Dauer der Aufbewahrung bei niederen Temperaturen keine Fruktifikation des Brennerpilzes mehr ein. Es ist dies besonders dann der Fall, wenn die befallenen Blätter sofort nach dem Abnehmen vom Stock in den Kühlraum kamen. Waren die Blätter schon vom Stock abgefallen oder vor dem Einbringen in den Kühlraum einige Zeit ausgetrocknet, so schadet die Aufbewahrung bei niederen Temperaturen weniger.

Material gleicher Herkunft, welches unbeabsichtigt den ganzen Winter über direkt neben einem oft stark geheizten Ofen gestanden hatte, zeigte dagegen nach entsprechender Behandlung keine Verminderung, sondern eher eine Erhöhung der Anzahl sich entwickelnder Apothecien. Zugleich war ein Wachstum von Saprophyten kaum festzustellen.

Bei Lagerung in kühler Temperatur und hoher Luftfeuchtigkeit wird das Fruktifikationsvermögen derart gestört, daß bei diesen Verhältnissen Saprophyten wachsen können, die den Rotbrenner-Pilz im Fortkommen hemmen. Finden dagegen beim Austrocknen des befallenen Blattes die Saprophyten keine günstigen Wachstumsbedingungen vor, so hat vielleicht *Pseudopeziza* im Blattinnern die Möglichkeit, noch eine gewisse Zeit zu wachsen und kann nach erneuter Durchfeuchtung des Blattes über die Saprophyten dominieren.

Die beschriebenen Schwierigkeiten gaben den Anlaß, die Bedingungen nochmals zu untersuchen, welche für eine Fruktifikation des Pilzes erfüllt sein müssen.

### a) Der Einfluß des Myzelalters

Nach ZILLIG und NIEMEYER muß daß Myzel ein gewisses Alter erreicht haben, bevor es zu einer Bildung von Fruktifikationsorganen in der Lage ist. Zur Überprüfung dieser Frage wurde folgender Versuch angestellt:

Versuch 1:

Je zehn Blatt von im Herbst gesammeltem infizierten Reblaub der Sorte „Berlandieri-Riparia Tel. 4 A Selektion Oppenheim" mit annähernd gleich großen Blattflecken wurden nach verschiedenen Zeitabständen in die feuchte Kammer eingelegt. Die Infektion war so weit fortgeschritten, daß ein Abfallen der Blätter in nächster Zeit bevorstand. In der Zwischenzeit wurden sie vor Feuchtigkeit geschützt an einem luftigen Ort im Freien aufbewahrt. Vor dem Einlegen in die feuchte Kammer kam das Laub ungefähr eine Stunde bis zur völligen Durchnässung in Leitungswasser. Aus Tabelle 1 sind die Befunde des Versuches ersichtlich:

*Tabelle 1*

Die Häufigkeit der Bildung von Apothecien in Abhängigkeit vom Alter der Blätter nach dem Abpflücken

| Alter der Blätter nach dem Abpflücken | Zahl der Blätter mit Apothecien | Tage nach dem Einlegen | Menge der gebildeten Apothecien | Bemerkungen |
|---|---|---|---|---|
| 3 Tage | 1 | 16 | 0 | teils unreife Apothecien, viele Blätter von Fremdinfektionen befallen |
| 14 Tage | 3 | 18 | ++ | viele Fremdinfektionen |
| 30 Tage | 6 | 14 | + | |
| 60 Tage | 5 | 10 | ++ | |
| 120 Tage | 9 | 6 | +++ | |
| 240 Tage | 10 | 4 | ++++ | |
| 360 Tage | 9 | 5 | ++++ | |

0 = wenige Apothecien verstreut auf dem Blatt;
\+ = bis 10 Apothecien auf 1 cm², aber nicht gleichmäßig entwickelt;
++ = bis 30 Apothecien auf 1 cm², gleichmäßig entwickelt;
+++ = bis 60 Apothecien auf 1 cm², gleichmäßig entwickelt;
++++ = über 60 Apothecien auf 1 cm², über das ganze Blatt dicht verteilt.

Die Befunde bestätigen die von ZILLIG und NIEMEYER gewonnenen Ergebnisse und ergänzen sie durch die Erfahrung, daß Apothecien auch schon vor Beginn der natürlichen Infektionsperiode des nächsten Jahres auftreten können. Es ist jedoch damit nicht entschieden, ob die bessere Ausbildung von Apothecien auf länger gelagerten Blättern lediglich ihre Ursache in einem höheren Alter des Myzels hat, oder ob sich infolge der längeren Lagerung im Blattgewebe stoffliche Veränderungen vollziehen, die eine Fruktifikation des Pilzes fördern bzw. erst ermöglichen. Auf die letzte Annahme weist z. B. die Tatsache hin, daß auf dem längere Zeit gelagerten Material eine

Überwucherung des Blattes durch andere Mikroorganismen nur noch selten erfolgt.

Aus dem folgend beschriebenen Versuch Nr. 2 geht hervor, daß eine Fruchtkörperbildung auch bei solchem Blattmaterial, welches sonst diese Eigenschaften nicht zeigte, in reichlichem Maße einsetzen kann, wenn bestimmte Stoffe daraus entfernt wurden.

Versuch 2:

Blätter mit Brennerflecken von derselben Rebsorte wie in Versuch 1, bei denen die Flecke jedoch nur halb so groß waren, wurden acht Tage nach dem Abpflücken und Trocknen an der Luft in Leitungswasser gelegt und das Wasser jeweils nach sechs bis acht Stunden erneuert. Beim Wechseln des Wassers wurden die Blätter zwischen Filtrierpapier ausgequetscht. Die gesamte Behandlung dauerte sechs bis acht Tage.

Nach dem Einlegen in die feuchte Kammer setzte meist nach kurzer Zeit eine reiche Ascosporogenese ein. Die sonst so häufige Überwucherung durch andere Mikroorganismen war nur noch selten festzustellen, wie es ähnlich auch nach längerer Trockenlagerung des Materials beobachtet wurde. Die Häufigkeit der Fremdinfektionen durch andere Pilze richtet sich offenbar nach der Größe des Befallsfleckes. Auf einem Blatt, welches fast vollständig von dem Parasiten durchwuchert ist, vermag kein anderer Pilz mehr zu wachsen. Durch das Auslaugen werden vermutlich gewisse Nährstoffe aus dem Blatt entfernt, so daß *P. tracheiphila* nicht mehr vegetativ zu wachsen vermag und nun zur Fortpflanzung schreitet. Als Vorbedingung gilt, daß das Myzel im Blatt eine gewisse Mindestausdehnung erreicht hat. Ist dies nicht erfolgt, so kommt es nicht zur Ascosporenbildung, wie der nächste Versuch zeigt.

Versuch 3:

Von frischen, noch am Stock befindlichen und bereits vom Stock abgefallenen Blättern wurden jeweils Streifen von ungefähr 1 × 3 cm Größe aus Brennerflecken verschiedener Größe herausgeschnitten. Diese Blattstücke kamen nach gründlicher Durchfeuchtung in eine feuchte Kammer.

Nach einiger Zeit konnte festgestellt werden, daß nur auf solchen Blattstücken Apothecien entstanden waren, in denen das Myzel des Brennerpilzes schon den größten Teil der Blattfläche durchwachsen und zum Absterben gebracht hatte. Zur Ausbildung der Fruchtkörperanlagen ist offenbar nötig, daß das Myzel im Blatt eine gewisse Ausdehnung erreicht hat. Ist die Anlage der Apothecien erfolgt, so kann das Blatt zerstückelt werden, ohne das Vermögen der Apothecienentfaltung zu mindern. Waren die Brennerflecke noch klein (1 bis 3 $cm^2$), konnten auch mikroskopisch keine Fruchtkörperanlagen gefunden werden. Auch unter natürlichen Verhältnissen im Weinberg können nach Zillig und Niemeyer kleinste Blattfragmente eine große Zahl von Apothecien enthalten. Ist eine Anlage der Fruchtkörper aber noch nicht erfolgt, solange sich das Blatt noch am Stock befindet, so kann sie unter gewissen Umständen späterhin nur nachgeholt werden, wenn andere Mikroorganismen

(Saprophyten) von der Besiedelung des Blattes ausgeschlossen werden können oder das Blatt durch Regen ausgewaschen wird.

Die Anlage der Apothecien erfolgt offenbar nur, wenn der Pilz keine Möglichkeit des vegetativen Fortkommens mehr findet, wenn bestimmte Nährstoffe im Blattgewebe verbraucht sind.

### b) Der Einfluß der Feuchtigkeit

In den Arbeiten von ZILLIG und NIEMEYER sowie von EIFFERT wird ein bestimmter Mindestgrad an Feuchtigkeit als der wichtigste Faktor der Apothecienbildung angenommen. Aus den bisher mitgeteilten Tatsachen geht hervor, daß eine gewisse Feuchtigkeit für die Auslösung der Entfaltung der Fruchtkörper notwendig ist, vorher müssen aber die Apothecien angelegt sein. Solange der Pilz noch die Möglichkeit eines vegetativen Wachstums findet, scheint es, wie wir gesehen haben, nicht zur Anlage und Entfaltung der Apothecien zu kommen. Diese Tatsache erklärt auch die Beobachtung von MÜLLER-THURGAU (1903, 1913), daß Temperatur und Feuchtigkeit während des Überwinterns einen großen Einfluß auf den Zeitpunkt und die Häufigkeit der Ascosporenbildung haben. Sind Temperatur und Feuchtigkeit für ein vegetatives Wachstum des Pilzes günstig, so durchwächst er den restlichen Teil des Blattes bis zur Erschöpfung der Nährsubstrate relativ schnell. Es kommt also zu einer verhältnismäßig frühzeitigen Ausschleuderung von reifen Ascosporen, wenn dafür günstige Bedingungen (gründliche Durchfeuchtung) vorhanden sind.

Die genaue Bestimmung der zur Apothecienentfaltung nötigen Feuchtigkeitsmenge ist schwierig, weil nicht ermittelt werden kann, ob Stoffe im Blatt vorhanden sind, die ein vegetatives Wachstum ermöglichen bzw. den Fruktifikationsvorgang hemmen.

Die Schwierigkeit kann umgangen werden, wenn für den Versuch Blätter zur Verwendung kamen, die bereits Apothecien angelegt hatten. Die Apothecienbildung kann, wie schon erwähnt, durch Austrocknen der Blätter beliebig unterbrochen werden.

Versuch 4:

Von vollständig befallenen Blättern, welche sechs Monate lufttrocken gelagert waren, wurden kleinere Stücke von etwa 1 $cm^2$ Größe geschnitten, durcheinandergemischt und jeweils 16 Stück in Petrischalen eingelegt. Die einzelnen Schalen wurden dann mit verschiedenen Feuchtigkeitsmengen besprüht und die Auswertung nach fünf Tagen vorgenommen.

Die Blattstücke, die sich lediglich in einem feuchtigkeitsgesättigten Raum befanden, zeigten keinerlei Anzeichen des Aufbrechens von Fruchtkörpern. In den Schalen, welche mit Wasser einmal leicht übersprüht waren, fanden sich teilweise halbkugelige Erhebungen, die sich bei mikroskopischer Kontrolle als unreife Apothecien erwiesen; Asci waren nicht vorhanden. Wurde das Besprühen mehrere Male wiederholt, waren in ganz wenigen Fällen reife Apothecien entstanden, die aber beim Austrocknen keine Ascosporen aus-

schleuderten. Im allgemeinen waren die Apothecien noch geschlossen, in einigen Fällen Asci ohne Inhalt zu erkennen. Bei einer vollkommenen Durchnässung des Versuchsmaterials war nach der gleichen Zeit eine große Anzahl reifer Apothecien auf fast allen eingelegten Blattstücken festzustellen, die Ascosporen in weißen Wölkchen ausschleuderten, wenn die Schalen einige Zeit geöffnet wurden. Bei genauerer Untersuchung mußte ich aber feststellen, daß auch Apothecien gebildet waren, die trotz längeren Verbleibens in der feuchten Kammer und erneuter Durchfeuchtung geschlossen blieben und keine Ascosporen erzeugten. Teilweise waren schon Asci ohne Inhalt vorhanden, meistens waren aber nur Paraphysen ausgebildet. Die Ursache dieser Erscheinung ist noch ungeklärt. Zur Ausbildung von Apothecien mit Ascosporen ist es also notwendig, daß eine gründliche Durchnässung des Laubes erfolgt.

### c) Der Einfluß der Wirtspflanzensorte

Nicht auf allen Rebsorten erzeugt der Pilz trotz der gleichen Behandlung und Ausdehnung der Befallsflecke in gleicher Häufigkeit reife Apothecien. Auf der Sorte „Berl.-Rip. Kober 5 BB" konnte nur ein einziges Mal eine Fruchtkörperbildung gefunden werden, wobei nur geschlossene Apothecien ohne Asci auftraten. Auch war der Befall dieser Sorte im Freiland, wie schon mitgeteilt, am geringsten. Die Befallsstärke steht in den untersuchten Fällen unter Laborbedingungen nicht immer in direkter Beziehung zur Anzahl der erzeugten Apothecien, wie es z. B. das Verhalten der Sorte „Aramon × Rip. M.G. 143 A" zeigte. Diese wies im Weinberg den zahlenmäßig stärksten Befall mit Brennerflecken auf. Die befallenen Blätter waren aber nur schwer zur Apothecienbildung zu bringen, während auf den Sorten „Berl.-Rip. Tel. 4 A Selektion Oppenheim" und „Berl.-Rip. Tel. 5 A", deren Befall etwas schwächer als bei „M.G. 143 A" war, unter entsprechend günstigen Verhältnissen der Pilz Apothecien in großer Menge bildete.

Über die vermutlichen Ursachen soll im Anschluß an Abschnitt 3 „Apothecienbildung auf künstlichen Substraten" einiges gesagt werden. Wahrscheinlich ist, daß hierbei das mengenmäßige Verhältnis mehrerer Wirkstoffe Einfluß haben kann.

## 2. Die Entwicklung der Fruchtkörper

Über den morphologischen Bau der Apothecien sind wir bereits durch die Untersuchungen von Müller-Thurgau (1903) unterrichtet, der auch den natürlichen Entwicklungszyklus beschreibt (1913). Den cytologischen Entwicklungsgang betreffende Angaben liegen bis heute offenbar noch nicht vor, dasselbe gilt auch für die Sexualitätsverhältnisse des Pilzes.

Der Entwicklungsgang, wie er unter natürlichen Verhältnissen auf dem Blatt durchlaufen wird, konnte noch nicht in allen Stadien beobachtet werden. Die fehlenden Entwicklungszustände, besonders die Anfänge der Apothecienbildung, treten aber unter bestimmten Bedingungen in künstlicher Kultur auf. Es kann angenommen werden, daß die Entwicklung auf natürlichem Substrat ähnlich verläuft.

Die jüngsten Zustände der Apothecienentwicklung wurden im parenchymatischen Gewebe von Blättern angetroffen, welche, wie angegeben, vom Stock geerntet und einige Zeit an der Luft aufbewahrt worden waren. Es handelt sich um kleine kugelige Gebilde (Abb. 2), die trotz der Kleinheit sich infolge der intensiven Anfärbung mit Eisen-Haematoxylin deutlich vom abgestorbenen Blattgewebe abhoben. Sie bestehen aus einer Anhäufung von pseudoparenchymatischen Zellen, welche in der Mitte fast isodiametrische Form besitzen, während die äußeren Schichten langgestreckt erscheinen. Die Zellwände der äußeren Schichten sind dicker und von Natur aus leicht gelblich gefärbt. In manchen Fällen scheint es, als wäre im Mittelpunkt der Apothecienanlage eine etwas größere und dichter angefärbte Zelle sichtbar. Diese Zelle konnte aber nicht in allen Präparaten nachgewiesen werden, so daß es zweifelhaft ist, ob es sich hierbei um die Ascogonzelle handelt. Auffällig war, daß diese früheren Entwicklungszustände auch noch gefunden wurden, wenn einzelne Apothecien desselben Blattes nach längerem Verweilen in der feuchten Kammer bereits reife Ascosporen ausgebildet hatten. (Auch unter natürlichen Bedingungen im Weinberg scheint ein gleichmäßiges Ausreifen der Apothecien nicht zu erfolgen.)

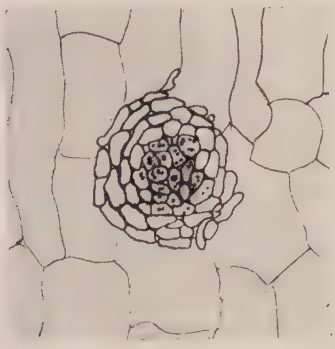

Abb. 2. Früher Entwicklungszustand der Apothecien von *Pseudopeziza tracheiphila* im Blattparenchym. (Vergr. etwa 160fach)

Die Kerne in den mittleren Zellen des Hyphenknäuels waren größer als in den äußeren Schichten. Die Zahl der Kerne in den einzelnen Zellen war nicht gleich, meist wurden zwischen vier und zehn gezählt. Einzeln liegende Zellkerne wurden nur selten gesehen. Sie waren fast immer in Paaren vorhanden und die Kernpaare auch in den äußeren Schichten zu finden.

Bei weiterer Entwicklung beginnen sich an der Grenze der größeren inneren Zellen und der äußeren Schichten Paraphysen zu entwickeln. Die Zahl der Zellkerne in den größeren mittleren Zellen wird infolge weiterer Zellteilungen kleiner, in manchen Zellen ist schließlich nur noch ein Kernpaar vorhanden oder aber ein einzelner Kern, der bedeutend größer als die einzelnen Kerne der Kernpaare ist. Diese größeren Kerne entstehen vermutlich durch die Verschmelzung der Kernpaare, wie es teilweise an Hand von Schnittpräparaten nachgewiesen werden konnte. Aus den Zellen, welche einen Verschmelzungskern enthalten, gehen später wahrscheinlich die Asci hervor. Die Karyogamie erfolgt demnach schon vor dem Einwandern des Kernes in den Ascus.

Abb. 3 zeigt den Schnitt durch ein Apothecium mit reifen Ascosporen kurz vor dem Aufreißen des Peridiums. Die in der Mitte befindlichen Asci sind in der Ausreifung der Sporen am weitesten fortgeschritten, während die am Rand befindlichen erst nach dem Öffnen in diesen Zustand übergehen.

Über die cytologischen Vorgänge der Reduktionsteilung in den Asci kann noch kein klares Bild gegeben werden, weil die einzelnen Beobachtungsergebnisse sich widersprechen und die Kleinheit des Objektes die Beobachtung sehr erschwert[1]).

Ein Kernteilungsbild, welches Abb. 4 zeigt, soll hier jedoch nicht unerwähnt bleiben, da es vielleicht mit der in Abschnitt D 1 „Formenanalyse

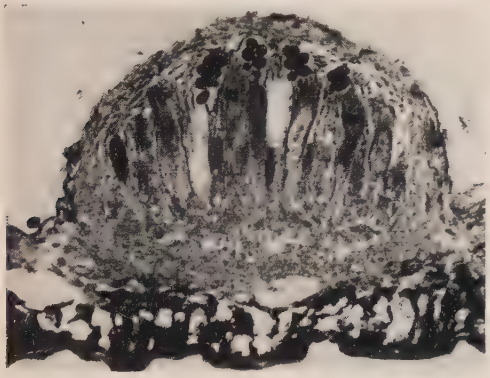

Abb. 3. Schnitt durch ein Apothecium mit reifen Ascosporen. Das Peridium ist noch geschlossen. (Vergr. 54fach)

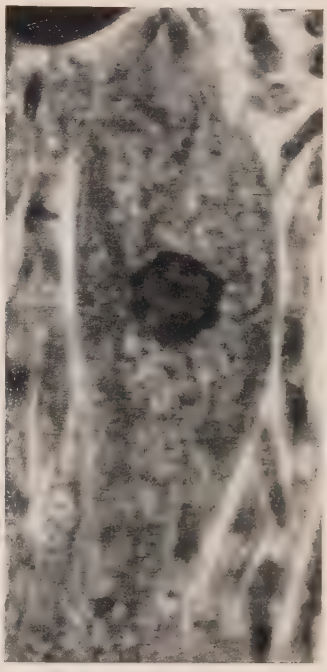

Abb. 4. Eigenartige „Ringbildung" des sich stark vergrößernden Kernes im Ascus. (Vergrößerung 800fach)

der Stämme" beschriebenen Formenmannigfaltigkeit in engem Zusammenhang steht. Vor der Ausschneidung der Ascosporen (welche in einer größeren Anzahl von Präparaten nie gesehen werden konnte) zerfällt der eingewanderte „Verschmelzungskern" in mehrere Kernteile, die sich schließlich wieder zu einem ringähnlichen Gebilde anordnen (siehe Abb. 4). Dieses Gebilde mit den ringförmig angeordneten Kernteilen ist bei allen untersuchten Herkünften des Pilzmaterials immer wieder beobachtet worden, so daß es sich vermutlich nicht um ein Kunstprodukt handelt, das durch die Fixierung entstand.

### 3. Apothecienbildung auf künstlichen Substraten

#### a) Beschreibung der Apothecien

Den Pilz in künstlicher Kultur auf definiertem Nährboden zur Fruktifikation zu bringen, gelang Müller-Thurgau (1903, 1913) trotz intensiver Bemühungen nicht. Eiffert konnte bei Verwendung einer bestimmten Malz-

[1]) Über die Entwicklungsgeschichte von *Pseudopeziza tracheiphila* soll in Kürze in einer besonderen Arbeit berichtet werden.

sorte unter nicht näher angegebenen Bedingungen mit wechselndem Erfolg einige Male das Auftreten von Apothecien beobachten. Aus seinen Angaben geht aber nicht hervor, ob auch reife Ascosporen entwickelt wurden[1]).

Bei der Kultivierung von Einsporkulturen des Pilzes auf einer großen Anzahl Nährböden verschiedener Zusammensetzung konnte festgestellt werden, daß *Pseudopeziza tracheiphila* nur auf Malzagar Gebilde erzeugt, die an Apothecien erinnern. In einigen Fällen wurden auch reife Ascosporen entwickelt. Die ganze Oberfläche der Kulturen war in diesen Fällen mit Apothecien vollkommen bedeckt, und das Ausschleudern der Sporen hielt, wenn die nötige Feuchtigkeit vorhanden war, wochenlang an. Wurde die Kultur während dieser Zeit durch Öffnen des Schalendeckels trockengelegt, dann hörte die Sporenejakulation auf, setzte aber nach Zugabe von einigen Tropfen dest. Wassers nach einer gewissen Zeit wieder ein.

Zur Herstellung der Nährböden, auf denen der Pilz fruktifizierte, kam eine Malzsorte unbekannten Fabrikates zur Verwendung, die leider nur noch in einem kleinen Restbestand vorhanden war und nicht wieder beschafft werden konnte. Bemerkenswert war außerdem, daß diese fruktifizierenden Kulturen meist von Schimmelpilzen und Bakterien verunreinigt waren. Diese Fremdpilze impfte ich getrennt ab und bewahrte sie auf in der Hoffnung, daß sie möglicherweise fruktifikationsauslösend wirken könnten. Leider gelang dies nicht.

Auf Nährböden, welche LIEBES Malzextrakt[2]) enthielten, traten nach Erreichen einer gewissen Ausdehnung bzw. auch eines gewissen Alters des Myzels an der Oberfläche der Kulturen regelmäßig Gebilde auf, die im makroskopischen Aussehen den auf den Blättern entstandenen Apothecien vollkommen glichen. Diese Gebilde waren bei einigen Stämmen auffallend groß. Sie traten zuerst in der Mitte der Kulturen auf und waren dann später fast bis zum Rande zu finden, zum Teil traten sie in konzentrischen Ringen auf. Der Zeitpunkt des ersten Auftretens, die Größe und die Verteilung ist von verschiedenen Bedingungen abhängig und teilweise sehr stammspezifisch. (Darüber wird im nächsten Abschnitt berichtet.) Die Farbe dieser Gebilde war gelblichbraun bis fast weiß; es kamen aber bei verschiedenen Stämmen auch tief dunkelbraune vor. Das Entscheidende jedoch: Asci mit Ascosporen wurden in diesen Gebilden mit Ausnahme der wenigen erwähnten Fälle nicht gefunden.

Abb. 5 zeigt einen Querschnitt durch ein solches Gebilde. Dabei ist deutlich eine große Ähnlichkeit mit dem Bau der Apothecien festzustellen. Die Schicht, aus welcher sonst die Asci aussprossen, ist aber viel stärker entwickelt. Die „Paraphysen" sind auf einen kleinen Raum zusammengedrängt. Das Peridium besteht wie bei den fertilen Apothecien aus pseudoparenchymatischen Zellen. Die Zellen, welche der fertilen Schicht eines fruktifizierenden Apotheciums entsprechen,

[1]) In Schnittpräparaten, die von EIFFERT hinterlassen wurden, waren Ascosporen in keinem Fall zu finden.

[2]) Hersteller: J. Paul Liebe, KG., Dresden.

sind vielkernig, die Kerne in Paarkernen vorhanden. Verschmelzungsstadien wurden nicht gefunden. Hierin liegt vielleicht der Grund, warum keine Asci ausgebildet werden. Wo die Ursache für dieses Verhalten zu suchen ist, läßt sich nicht leicht sagen. Zweifellos liegt sie in Ernährungsverhältnissen begründet, denn die „fertile Schicht" ist ja gegenüber den Verhältnissen der Ascosporen bildenden Apothecien ins Riesenhafte vergrößert und nimmt den größten Teil des vorhandenen Raumes ein.

Während der Durchmesser der auf den Rebblättern erzeugten Apothecien bestenfalls 0,5 mm erreicht, wurden auf Malz-Agar-Kulturen nicht selten „Pseudoapothecien" — so sollen diese sterilen Apothecien genannt werden — von etwa 3 mm Durchmesser festgestellt. Die Anlage der „Pseudoapothecien" erfolgt nicht nur an der Oberfläche des Substrates, sondern auch innerhalb desselben. Es wurden in diesen Fällen aber keine „Paraphysen" entwickelt.

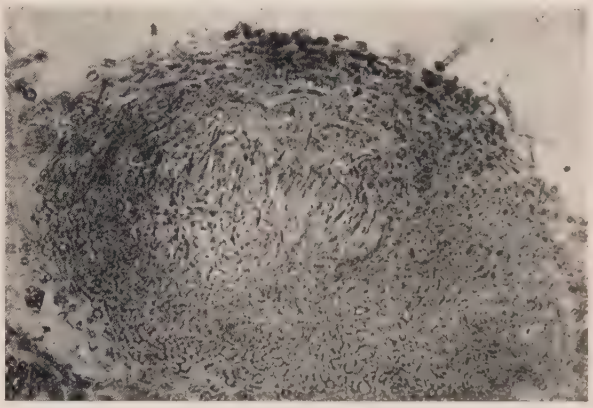

Abb. 5. Schnitt durch ein steriles „Apothecium", welches auf einem Malzagar bestimmter Zusammensetzung gebildet wurde. (Vergr. etwa 65fach)

Die frühesten Stadien, von welchen die Apothecien-Entwicklung ihren Ursprung nimmt, wurden schon von Müller-Thurgau beobachtet und mit der Bezeichnung „spiralige Aufrollungen" als weitere „auffällige Eigenart des Brennerpilzes" beschrieben, ohne von ihm in ihrer Bedeutung erkannt zu werden.

Die Entwicklung der Apothecienanlage beginnt, indem sich ein Hyphenende, nachdem der Inhalt eine stark lichtbrechende Beschaffenheit angenommen hat, krümmt (Abb. 6) und sich spiralig aufrollend wächst (Abb. 7). Meistens handelt es sich hierbei um den kürzeren Seitenzweig einer Hyphe, manchmal krümmen sich aber auch die Enden längerer Hyphen, die selbst wieder Verzweigungen bilden. Die Hyphen sind in diesem Zustand bereits dikaryotisch, die Zahl der Paarkerne in einer Hyphenzelle ist sehr unterschiedlich (Abb. 7). Beim Weiterwachsen liegen die einzelnen Windungen dicht beieinander. Es werden im allgemeinen fünf bis zehn Windungen gebildet. Die Hyphenspitze behält dabei ihre stark lichtbrechende Beschaffenheit bei. Bald danach treiben die äußeren Windungen der Spirale sowie die an der Basis derselben befindlichen Zellen Hyphenzweige aus, die sich reichlich verzweigen und die Spirale schnell vollkommen verhüllen. Das Auftreten der Spiralen ist auf einigen bestimmten Nährböden festzustellen, aber nur auf Malz-Agar kommt es zu einer Bildung der Hüllhyphen und fortschreitend

zur Bildung der Pseudoapothecien. Die spiraligen Aufrollungen können unter Umständen so dicht beieinander liegen, daß mehrere davon zu einem „Pseudoapothecium" verschmelzen.

Diese spiraligen Aufrollungen sind, wie schon bei den verschiedensten Familien der Ascomyceten in ähnlicher Form gefunden wurde, reduzierte Befruchtungsorgane. Die Ausbildung eines Archicariums unterbleibt. Ob irgendwelche Ersatzvorgänge eine Befruchtung vollziehen können, ist fraglich, wenn auch Zellfusionen benachbarter Hyphen

Abb. 6. Bei Krümmung einer Hyphenspitze, die eine stark lichtbrechende Beschaffenheit annimmt, wird die Entwicklung der Apothecienanlagen eingeleitet. Phasenkontrastaufnahme: Vergr. 720fach

Abb. 7. „Spiralige Aufrollungen". Danach beginnen aus den äußeren Windungen die Hüllhyphen auszuwachsen. Phasenkontrastaufnahme: Vergr. 720fach

gelegentlich auftreten. Bei *Pseudopeziza tracheiphila* scheinen sie auch nicht notwendig zu sein, denn Paarkerne konnten schon kurz nach dem Aussetzen der Ascosporen beobachtet werden. Die Homothallie des Pilzes geht schon aus den Untersuchungen von MÜLLER-THURGAU (1913) hervor, wenn er auch diese Frage in keiner Weise berührte. Er impfte eine Ascospore oder Gelatinestücke einer Einsporkultur auf sterilisiertes Reblaub und konnte nach einigen Wochen Apothecienbildung mit reifen Ascosporen beobachten, mit welchen er diesen Vorgang wiederholte.

Die Befunde von MÜLLER-THURGAU konnte ich bestätigen. Zur Entwicklung der Apothecien einschließlich der Erzeugung bedarf es keiner weiteren Komponente, keines Befruchtungsvorganges mit einem anderen Geschlecht. *Pseudopeziza tracheiphila* ist demnach homothallisch.

Längere Zeit auf Malz-Agar gezogene Stämme zeigen dabei ein eigenartiges Verhalten. Auf sterilisiertes Reblaub übergeimpft, bilden sie nur „Pseudoapothecien" aus. Durch Kultur auf Malz-Agar verlieren sie offenbar die Eignung, reife Ascosporen zu bilden.

## b) Die Entwicklungsbedingungen

Die Entwicklung der beschriebenen „Pseudoapothecien" konnte bisher nur auf Nährsubstraten beobachtet werden, die Malzextraktzusätze enthielten. Die „Pseudoapothecien" waren durch Veränderungen des Substrates (Konzentration des Malzextraktes und des Agars) und der Umweltbedingungen in mannigfaltigster Art nicht zur Entwicklung reifer Asci zu bringen. Im folgenden soll nun gezeigt werden, von welchen Faktoren die Anlage der „Pseudoapothecien" beeinflußt wird.

Einfluß der Konzentration des Malzextraktes: Wenn in Malz-Agar bestimmte Stoffe, vielleicht auch Wirkstoffe, enthalten sind, die die Bildung der „Pseudoapothecien" ermöglichen, so interessierte es zu wissen, in welchem Konzentrationsbereich sie die Entwicklung ermöglichen.

Die Nährböden mit der jeweiligen Malzextrakt-Konzentration und 2 % Agar wurden mit 25 ccm in Erlenmeyerkolben 100 ccm gefüllt und mit dem Stamm Op A I/3 beimpft.

*Tabelle 2*

Einfluß der Malzextraktkonzentration auf die Bildung der „Pseudoapothecien"

| Konzentration des Malzextraktes in % | 0,5 | 1,0 | 2,0 | 4,0 | 6,0 | 8,0 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Erstes Auftreten der „Pseudoapothecien" in Tagen nach dem Impfen | 6 | 10 | 16 | 24 | 30 | — |
| Anzahl der gebildeten „Pseudoapothecien" nach 36 Tagen | 6 | 25 | 80 | 220 | 500—600 | — — |

Die Apothecienbildung setzt also bei geringen Malzkonzentrationen bedeutend früher ein, was auf eine Erschöpfung des Substrates schließen läßt, während der Beginn der Apothecienbildung bei höherer Malzkonzentration wesentlich später erfolgte. Die Zahl der gebildeten „Pseudoapothecien" war aber auf dem Nährsubstrat mit höherer Malzkonzentration bedeutend größer.

Einfluß der Feuchtigkeit: Erfolgt bei Kulturen in Petrischalen ein zu schnelles Austrocknen des Substrates, so setzt die Pseudoapothecienbildung nur unregelmäßig und spärlich ein. Für eine normale Entwicklung ist es notwendig, daß die Kondenswassertropfen an den Schalendeckeln durch Zugabe von sterilem Wasser stets erhalten bleiben (d. h. also eine relative Luftfeuchtigkeit von 100 %).

Einfluß der Temperatur: Durch Aufbewahren der Kulturen bei Temperaturen oberhalb 25 ° C wurde die Entwicklung von „Pseudoapothecien" unterdrückt. Kulturen, die im Keller bei Temperaturen von ~ 12 bis 14 ° C standen, zeigten im Gegensatz dazu eine sehr reichliche Entfaltung der sterilen Fruchtkörper, wenn die Entwicklung, zeitlich gesehen, auch erst bedeutend später einsetzte.

Der folgende Versuch zeigt, wie unterschiedlich sich verschiedene Stämme gegenüber gleichen Kulturbedingungen verhalten. Die Fragestellung lautete:

Wie ist die Einwirkung verschieden großer Nährstoffmengen auf die Wachstumsintensität und die Verknüpfung mit dem Beginn des Erscheinens der ersten „Pseudoapothecien" bei verschiedenen Stämmen des Pilzes?

Zu diesem Zweck wurden je eine größere Anzahl Fernbachkolben mit 50 ccm und Erlenmeyerkolben mit 25 ccm Malzagar (4 % Liebes-Malzextrakt + 0,5 % Pepton und 1,0 % Agar) beschickt, sterilisiert und mit fünf verschiedenen Stämmen beimpft. Von jeweils zwei Kulturen wurden im Intervall von vier bzw. acht Tagen das Myzeltrockengewicht bestimmt und die Mittelwerte in das Kurvenbild der Abb. 9 eingetragen.

Abb. 8. Die unterschiedliche Bildung von Pseudoapothecien zweier Kulturen verschiedener Stämme nach 36tägiger Kulturdauer. (Links Stamm OpA I/3, rechts Stamm RuA I/4)

Die Kolonien der Parallelkulturen eines Stammes zeigten eine verblüffende Ähnlichkeit der Oberflächenformen und der Koloniedurchmesser. Sehr unterschiedlich aber waren die verschiedenen Stämme, wenn man sie gegeneinander verglich: Während der Stamm „OpAI/3" nach 36tägiger Kulturdauer starke Pseudoapothecienbildung aufwies (Abb. 8), war die Oberfläche des Stammes „RuAI/4" noch vollständig glatt. Die Abbildung zeigt Kulturen mit 50 ccm Substratmenge. In den Kulturen mit 25 ccm Nährstoffmenge zeigten beide Stämme zu diesem Zeitpunkt gleichzeitig Pseudoapothecienentwicklung; der Stamm „OpAI/3" allerdings wesentlich stärker. Dagegen hatte auch bei 25 ccm Substratmenge der Zwergstamm „GoBI/1" in derselben Zeit erst einen Kulturdurchmesser von 35 mm erreicht, und Anfänge einer etwaigen Entfaltung der Apothecien waren noch nicht zu bemerken.

Beim Vergleich der Kurven der Abb. 9 ergibt sich folgendes: In Pilzkulturen eines Stammes bei verschiedenen Substratmengen beginnt die Pseudoapothecienbildung nicht im gleichen Alter der Kulturen. Es muß scheinbar ein bestimmtes Verhältnis zwischen der erzeugten Myzelmenge und dem rest-

lichen Nährsubstrat bestehen, welches für einen Stamm typisch ist. Aus 1 g Malzextrakt müssen ungefähr 125 mg Trokkensubstanz erzeugt werden, bevor eine Entwicklung der „Pseudoapothecien" einsetzt. Überraschenderweise ergibt sich, daß diese Konstante für alle geprüften Stämme fast die gleiche Größe besitzt. Weist auch die Wachstumsintensität der Stämme ziemliche Unterschiede auf, so ist ihnen doch gemeinsam, daß erst dann die „Pseudoapothecien" erscheinen, wenn die erzeugte Trockensubstanz unter den gleichen Kulturverhältnissen einen bestimmten, für alle Stämme annähernd gleichen Wert erreicht hat.

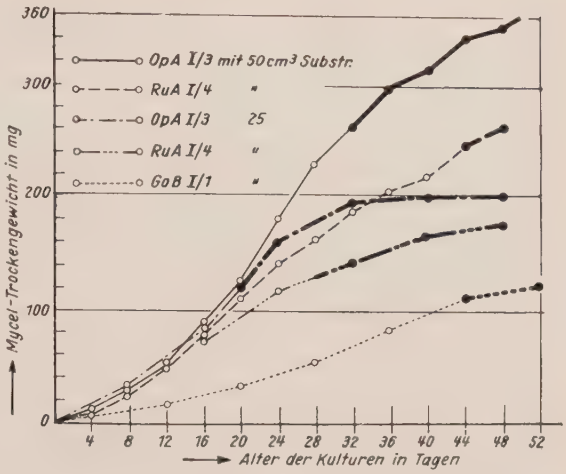


Abb. 9. Die Wachstumsintensität einiger Stämme in Abhängigkeit von der Zeit und der Menge des Nährsubstrates.
(Beginn der Pseudoapothecienbildung = dicke Linien)

## D. Wachstum und Ernährung

### 1, Formenanalyse der Stämme

Die von Zillig und Niemeyer isolierten Stämme wiesen in der Wuchsform makroskopisch und mikroskopisch keine Unterschiede auf; über die Wachstumsintensitäten wurden keine Angaben gemacht. Da von Zillig und Niemeyer nur wenige Stämme in dieser Hinsicht geprüft worden sind, sollten meine Untersuchungen die Frage einer möglichen Rassendifferenzierung des Pilzes mit einer größeren Versuchszahl klären helfen. Von insgesamt 220 isolierten Einsporkulturen konnten nur 48 im Hinblick auf die Geschwindigkeit des Wachstums und die makroskopische Wuchsform ausgewertet werden.

Von jedem Stamm wurden vier Parallelkulturen auf Malzagar in Petrischalen 60 mm ⌀ bei einer Temperatur von 18 ° ± 5 ° C gezogen. Die Auswertung erfolgte nach 15 Tagen. Der Koloniedurchmesser wurde an drei Stellen gemessen und bei etwas unsymmetrisch gewachsenen Kolonien der mittlere Durchmesser genommen.

Das Kurvenbild der Abb. 10 zeigt die Unterschiede der Wachstumsintensitäten und die Häufigkeit des Auftretens von Kulturen in den Klassen der Wachstumsintensitäten. Die obere Kurve veranschaulicht die Verteilung der Wachstumsintensität aller Kulturen o———o; dabei wurde auf die Stammherkunft keine Rücksicht genommen. Die Säulen zeigen die klassenmäßige Verteilung des Auftretens der Mittelwerte der Wachstumsintensitäten der

einzelnen Stämme (Klone). Die Verteilung der Varianten, einmal der aller Kulturen und zum anderen der Mittelwerte der Stämme, kommt in ähnlicher Weise zum Ausdruck.

Stärkere Abweichungen vom „Normaltypus" zeigt dabei der Stamm „GoBI/1" (genannt Zwergstamm) und in etwas geringerem Maße „BsAI/1" auf, deren Wachstumsintensität bedeutend unter dem Durchschnitt lagen. Mit der geringeren Wachstumsintensität stimmte das makro- und mikroskopische Aussehen überein. Die Mitte der Kulturen des Zwergstammes (GoBI/1) wächst erhaben, und die Oberfläche des Mittelteiles war feuchtglänzend und von kleisterartiger Beschaffenheit. Die Hyphen zeigen im Gegensatz zu anderen Stämmen eine eigenartige „knorrige" Wuchsform und Verzweigungsbilder (Abbildung siehe HENNIGER, 1952). Auch die Unterschiede in der Bildung von Trockensubstanz sind beträchtlich. Der Anstieg der Wachstumskurve liegt beträchtlich unter dem anderer Stämme, vgl. Abb. 9. Der Stamm „OpAI/3" bildete nach 20 Tagen etwa 95 mg Trockensubstanz, während das Myzeltrockengewicht des „Zwergstammes" erst 35 mg betrug.

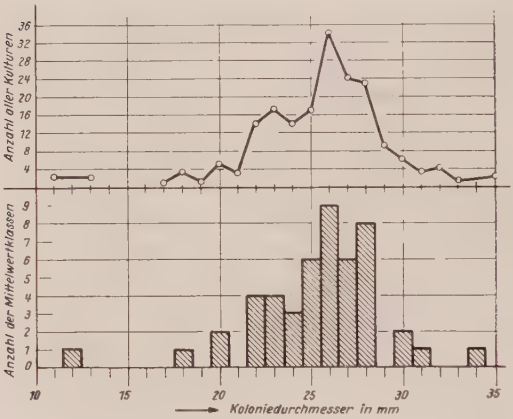


Abb. 10. Verteilungskurve der Koloniedurchmesser aller Kulturen (oben) und der Mittelwerte der Klone (unten)
(Durchschnittswerte von je vier Kulturen)

Die Unterschiede des makroskopischen Wuchsbildes zwischen den einzelnen Stämmen sind bedeutend größer. Unter den untersuchten Stämmen waren fast keine zu finden, welche in dieser Beziehung mit anderen fast gleich waren. Die Parallelkulturen eines Stammes dagegen zeigten in dieser Hinsicht eine erstaunliche Übereinstimmung. In der Ausbildung des Luftmyzels, der Falten und konzentrischen Ringe sowie in der Entstehung, Größe und Anzahl von „Pseudoapothecien" war die Gleichheit verblüffend. Abb. 11 gibt einen Überblick über die Formenmannigfaltigkeit einer Sammlung von Einsporkulturen, wie sie aus den Ascosporen, die von einem Apothecium stammten, gezogen wurden. Die Unterschiede sind nicht wesentlich größer, wenn die Ascosporen von anderen Apothecien oder anderen Rebsorten (auch geographischen Herkünften) isoliert worden sind. Dieses Wuchsbild läßt sich aber nicht oder nur in beschränkter Weise für eine Charakterisierung der Stämme verwenden, da es von äußeren Bedingungen sehr stark beeinflußt wird. Näheres über diese Änderungen wird in den folgenden Versuchen berichtet.

Bei den Bemühungen, alle acht Sporen aus einem Ascus zu isolieren, um ihre Formenmannigfaltigkeit zu untersuchen, konnten infolge von Fremdinfektionen im Höchstfall sechs Kulturen miteinander verglichen werden. In der Wuchsform der Kolonien traten hierbei unter gleichen äußeren Bedin-

gungen größere Unterschiede auf, als wenn die Sporen nicht aus einem Ascus stammten. Von den sechs Kulturen eines Ascus wäre zu erwarten gewesen, daß sich mindestens zweimal je zwei Kulturen ähnlich sind, was jedoch nicht festgestellt werden konnte.

Abb. 11. Wuchsbild von sieben verschiedenen Einsporkulturen aus Ascosporen, welche vom gleichen Apothecium isoliert worden sind. Kultursubstrat: Malzagar (etwa ½ nat. Gr.)

**2. Der Einfluß von Wirkstoffen auf das Wachstum**

a) Kultur des Pilzes auf verschiedenen Nährböden

Von den früheren Untersuchern des Pilzes wurden Kulturversuche auf mehreren Nährböden angestellt, ohne jedoch genauere Beschreibungen über die Reaktionsweise und deren vermutliche Ursachen zu geben. In den folgenden Versuchen sollte vor allem die Variationsbreite eines Stammes festgestellt werden. In quantitativer Hinsicht ergaben sich dabei die Schwierigkeiten, daß außer dem Myzelgewicht und dem Koloniedurchmesser keine anderen Merkmale zu messen sind, weil Dicke und Länge der Hyphenzellen innerhalb einer Kultur starken Schwankungen unterliegen. Weil in Vorversuchen festgestellt werden konnte, daß die Größe, die Lage und das Alter des übergeimpften Myzelstückes keinen Einfluß auf das Wachstum der Kultur haben, erfolgte die Beimpfung mit Myzelstücken von 1 bis 3 mm Seitenlänge. Eine Konidienbildung erfolgte nur sehr selten, außerdem sind diese Konidien nicht fähig, neues Myzel auszubilden. Sie stellen nach Bildung eines Keimschlauches das Wachstum ein. Alle Nährböden wurden gleichzeitig bei 115 ° C 20 Min. im Autoklaven sterilisiert, die Kulturen am gleichen Tage beimpft und unter gleichen Außeneinflüssen bei 18 ° ± 3 ° C in gedämpftem Tageslicht aufbewahrt. Die Beleuchtung hatte keinen sichtbaren Einfluß auf die

*Tabelle 3* Wachstum eines Stammes von *Pseudopeziza* (Temperatur

| Art des Nährsubstrates | Wachstumsintensität | Wuchsform makroskopisch |
|---|---|---|
| 1. Malzagar nach JANKE 4 % Malzextrakt (LIEBE), ½ % Pepton | am besten von allen Substraten +++++ | Ausbildung von konzentrischen Ringen und Radialfalten, in der Mitte Luftmyzel, Rand: glatt, „Pseudoapothecien" häufig |
| 2. Malzagar 1 % (KÖNIGS Malzextrakt) (bei 4 % ME-Gehalt erfolgte kein Wachstum, erst ab 1 % war regelmäßiges Wachstum zu beobachten) | +++ bis ++++ | nur Substratmyzel, Oberfläche glatt, „Pseudoapothecien" selten, Rand: glatt |
| 3. Reblaubdekokt (50 %) mit 3 % Saccharose | ++++ | Luftmyzel mäßig, schwache Radialfalten, keine „Pseudoapothecien", Rand: locker |
| 4. CZAPEK-Agar (mit 3 % Saccharose) | sehr gering + | nur Substratmyzel, sehr dünne durchscheinende Myzeldecke, Rand: unregelmäßig gefranst |
| 5. Raulin-Dierckx (mit 12 % Gelatine und 4 % Saccharose) | etwas besser als auf CZAPEK-Agar ++ | nur Substratmyzel, Bildung von regelmäßigen „Hökkern", Rand: sehr dünn und unregelmäßig |
| 6. Raulin-Dierckx (mit 2 % Agar und 4 % Saccharose) | sehr gering + | wie auf CZAPEK |
| 7. SABOURAUD-Agar nach JANKE S. 125 (Pepton-Zucker-Substrat) | sehr gering + | wie auf CZAPEK, Rand: sehr unregelmäßig, zottig |

untersuchten Eigenschaften. Die Untersuchung wurde an gleichaltrigen Kulturen nach 20 Tagen vorgenommen, mikroskopische Kontrollen an Myzelstücken, welche stets ½ cm vom Rand der Kultur entnommen waren.

Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Auf allen Nährsubstraten, welche außer der C-Quelle pflanzliche Extrakte enthalten, wächst der Pilz gut bis sehr gut, während rein mineralische Nährböden ein Wachstum kaum ermöglichen. „Pseudoapothecien" traten nur auf Malzagar auf, Konidiosporen konnten auf keinem der untersuchten Substrate beobachtet werden.

*tracheiphila* auf verschiedenen Nährböden *Tabelle 3*
18° ± 3° C)

| Wuchsform mikroskopisch | Kolonie-Ø in mm | Trocken-gewicht in mg | Farbe der Kolonie |
|---|---|---|---|
| Hyphen geschlängelt, Verzweigung und Septierung normal, sehr viel spiralige Aufrollungen, Hyphendicke: 4 bis 5 $\mu$ | 38 | 105 | leuchtend braun bis dunkelbraun |
| ähnlich 1., spiralige Aufrollungen geringer, Hyphendicke: 3 bis 5 $\mu$ | 30 | 31 | Mitte: braun, Rand: gelblich-braun |
| ähnlich 1., spiralige Aufrollungen häufig stärker verzweigt, in den Hyphen Einlagerung von stark lichtbrechenden Körpern, Hyphendicke: 4 bis 6 $\mu$ | 42 | 64 | dunkelbraun bis dunkelgrün |
| Hyphen geschlängelt, teilweise „knorrig", wenig verzweigt, nesterartige Verzweigungen, Hyphen spärlich septiert, Hyphendicke: 2 bis 3 $\mu$, spiralige Aufrollungen fast nicht vorhanden | 18 | 3,5 | fast farblos, ältere Kulturen leicht bräunlich |
| schwach verzweigt, normal septiert, 3 bis 4 $\mu$ | 30 | 22 | leicht hellbraun Höcker dunkelbraun |
| Hyphen glatt, vereinzelt geschlängelt, radial verlaufend, Enden oft blasenartig aufgetrieben, Verzweigung und Septierung spärlich | 22 | 5,5 | fast ganz farblos |
| ähnlich Czapek | 20 | nicht wägbar | farblos |

Vermutlich handelte es sich bei den zugesetzten wachstumsfördernden Stoffen um organische Wachstumsfaktoren, denn eine Zugabe von Spurenelementen (A-Z-Lösung nach Hoagland) bzw. des Glührückstandes von Reblaub bewirkten keine sichtliche Förderung.

Mehrmaliges Erhitzen unter Druck im Autoklaven verminderte die wachstumsfördernde Wirkung der Pflanzendekokte beträchtlich. Reblaubdekokt, welches sechsmal ½ Stunde bei 130° C = 1 Atü im Autoklaven erhitzt worden war, förderte das Wachstum nur noch sehr wenig (Trockengewicht der Kultur nach 30 Tagen 17 mg, Kontrolle ohne Zusätze = 10,5 mg).

### b) Zusatz von Hefeautolysat zu mineralischen Nährböden

Die Hefe ist nach RUDOLPH (1948) eines unserer reichsten Wirkstoffreservoire. Von ihren Wirkstoffen sind nach den heutigen Erfahrungen diejenigen des B-Komplexes und der Bios-Gruppe für viele Mikroorganismen notwendige Wachstumsfaktoren.

Wie sich die Höhe einer Zugabe von Hefeautolysat auf den Ernteertrag des Myzeltrockengewichtes von *P. tracheiphila* auf CZAPEK-Agar auswirkt, ist aus dem Kurvenbild der Abb. 12 ersichtlich.

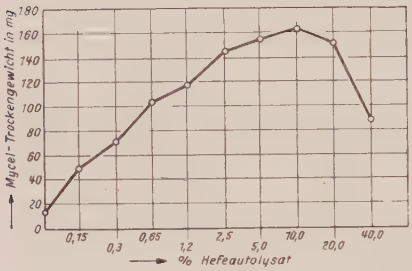


Abb. 12. Die Mittelwerte der Myzeltrockengewichte von zwei Kulturen bei steigender Hefeautolysat-Zugabe zu Czapek-Agar

Die Kurve zeigt eine Form, wie sie für steigende Wirkstoffgaben charakteristisch ist: Ein steiler Anstieg bei Zugabe geringer Mengen. Auch die mikroskopische Wuchsform ist großen Veränderungen unterworfen. Während bei den niedrigen Hefeextraktkonzentrationen glatte bis leicht geschlängelte Hyphen vorherrschend sind, treten bei den höheren dicke, knorrige Hyphen auf, die stark septiert und verzweigt sind und im Innern stark lichtbrechende Körper erkennen lassen.

### c) Zugabe von reinem Aneurin (Vitamin $B_1$)

Bekanntlich benötigen viele Pilze, auch Ascomyceten, Vitamin $B_1$ (Aneurin, Thiamin) als unentbehrlichen Wachstumsfaktor; FRIES (1938), JANKE (1939), SCHOPFER (1939). Es wurde nun geprüft, ob Aneurin auch bei *Pseudopeziza tracheiphila* ein unentbehrlich notwendiger Wachstumsfaktor ist und ob noch andere Wirkstoffe für ein gutes Wachstum nötig sind bzw. eine zusätzliche Förderung bewirken.

Aneurin-Hydrochlorid (MERCK, reinst) wurde 1 mg pro ccm in Aqua-bidest. gelöst und Verdünnungsreihen, wie unten angegeben, hergestellt. In die besonders gut gereinigten Petrischalen (60 mm ⌀) kamen je 10 ccm Nährsubstrat (Raulin-Dierckx + 2 % Saccharose + 2 % Agar). Die Wirkstofflösung wurde erst nach dem Sterilisieren, pro Schale 1 ccm mit dem entsprechenden Wirkstoffgehalt, zugegeben und die Schalen nochmals zur guten Durchmischung im Dampftopf 10 Min. erhitzt. Der verwendete Fadenagar war drei Monate ausgefault und gewässert worden, zuletzt in Aqua-dest.

Um zugleich feststellen zu können, wie verschiedene Stämme auf Aneurin reagieren, wurden vier Reihen mit je einem Stamm beimpft. Die photographische Aufnahme (Abb. 13) wurde nach 20tägiger Kulturdauer angefertigt, danach erfolgte die quantitative Bestimmung der Wachstumsintensität durch Wägung der gebildeten Trockensubstanz.

Zwischen $10^{-1}$ $\gamma$ und $10^{-2}$ $\gamma$ Aneurin je 10 ccm³ NL ist in jeder Reihe eine Änderung der Wuchsform, besonders der Faltenbildung zu sehen. Die Farbstoffbildung unterlag in diesem Bereich auch einem Wechsel, der besonders beim Stamm „RuAI/6“ ausgeprägt war.

Im mikroskopischen Wuchsbild war mit der steigenden Aneurinkonzentration bis 10 $\gamma$ eine Steigerung der Hyphendicke, Zunahme der Verzweigungen und stärkere Septierung festzustellen. Eine noch höhere Vitamindosis verursachte an den Hyphen eigenartige Mißbildungen. Blasenartige Verdickungen, besonders der Endzellen in der Randzone, und starke knäuelartige Verzweigungsnester traten auf. Verschiedene Stämme, besonders aber „GoAI/7", zeigten die Tendenz, bei überoptimalen Aneuringaben am Rande der Kolonie Auswüchse zu bilden, die eine viel höhere Wachstumsgeschwindigkeit als die Mitte der Kultur hatten. Abimpfungen von diesen schneller wachsenden Teilen auf Nährböden mit optimalem Vitamingehalt behielten ihre stärkere Wachstumsintensität gegenüber Abimpfungen aus dem normalen Mittelteil der Kolonie bei, so daß man in diesem Falle von einer mutationsauslösenden Wirkung hoher Aneurinkonzentrationen zu sprechen geneigt sein könnte.

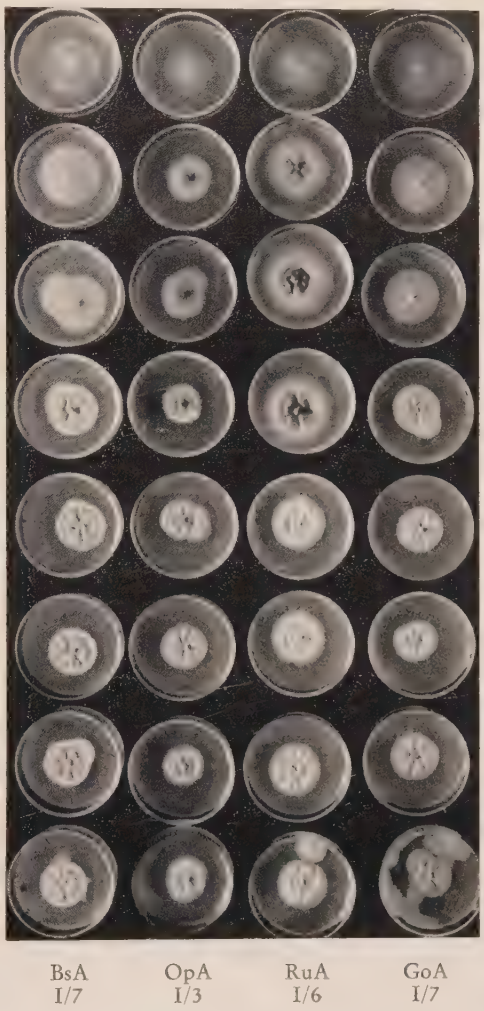


Abb. 13. Die Wirkung einer Aneurinzugabe zu einem synthetischen Nährboden auf die Wuchsform mehrerer Stämme

Aus der Abb. 13 ist schon eindeutig zu sehen, daß die Intensität des Wachstums durch eine Vitamin-$B_1$-Zugabe beträchtlich gefördert wird. Die quantitativen Ergebnisse des Versuches gehen aus dem Kurvenbild Abb. 14 hervor.

Beim Vergleich der Kurven ergibt sich, daß das Wirkstoffbedürfnis der einzelnen Stämme sehr unterschiedlich sein muß. Während sich in einem früheren Versuch der Stamm „OpAI/3" in der Bildung von Trockensubstanz dem Stamm „RuAI/6" überlegen zeigte, ist bei reinem Aneurin das Gegenteil

der Fall; der letzte ist auf diesem Substrat in der Wachstumsintensität dem Stamm „OpAI 3" überlegen. (Der Anstieg der Wachstumskurve des Stammes „GoAI 7" bei der höchsten Konzentration an Aneurin ist auf die schon beschriebenen Auswüchse am Rande der Kultur zurückzuführen.)

### d) Kombinierte Zugabe von Aneurin und weiteren Wirkstoffen

Beim Vergleich der Wachstumsintensität auf den bisher untersuchten Substraten drängt sich die Frage auf, ob nicht neben dem Aneurin noch weitere Wirkstoffe — die in Pflanzenextrakten und Hefeautolysat enthalten sind — zusätzlich wachstumsfördernd auf *P. tracheiphila* wirken können. Auf einem Malz-Nährboden wuchs beispielsweise der Pilz noch wesentlich besser als auf mineralischen Nährböden (CZAPEK und Raulin-Dierckx) mit Aneurinzugabe.

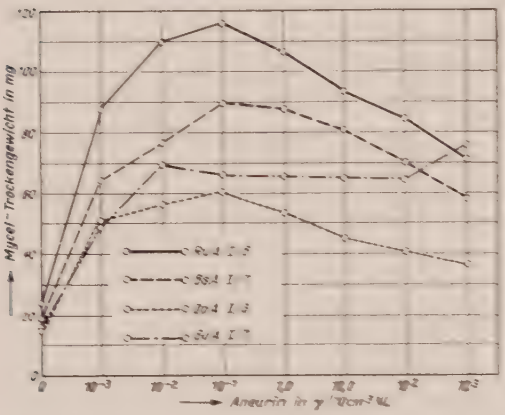


Abb. 14. Die Höhe des Myzeltrockengewichtes in Abhängigkeit von steigenden Aneuringaben zu Raulin-Dierckx-Agar

Da andere reine Wirkstoffe nicht zur Verfügung standen, wurde Hefeextrakt (in einem anderen Versuch auch Biomalz und Pflanzendekokte) in verschiedenen Konzentrationen Nährböden gleicher Zusammensetzung wie im Versuch c) mit steigendem Aneuringehalt zugesetzt. Die Mengen gehen aus dem Kurvenbild Abb. 15 hervor.

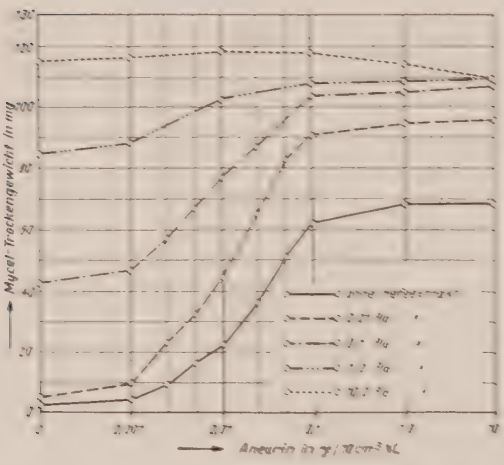


Abb. 15. Kombinierte Zugabe von Aneurin und Hefeextrakt (Stamm: OpA I 3)

Das Ergebnis bestätigte die Vermutungen. Geringster Zusatz von Hefeautolysat erhöht den Ertrag an Myzeltrockengewicht beträchtlich. Bei höheren Konzentrationen nimmt die Förderung nur noch in geringem Maße zu, was bedeutet, daß dieser Wirkstoff schon in den geringsten Konzentrationen eine erhebliche Förderung des Wachstums auslöst. Neben dem Aneurin benötigt demnach *P. tracheiphila* noch andere Wirkstoffe, um ein optimales Wachstum zu erreichen.

### e) Die Assimilation verschiedener Kohlenhydrate bei wechselnder Aneurinkonzentration

In dieser Versuchsreihe sollte geprüft werden, wie sich die Zugabe von verschiedenen Kohlenhydraten: Saccharose, Dextrose, Maltose und löslicher Stärke, bei steigendem Aneuringehalt des Nährsubstrates, auf die Höhe der Trockengewichte auswirkt. Außerdem war bei einigen Versuchsreihen schon aufgefallen, daß die Kulturen des Brennerpilzes mit Saccharose als C-Quelle auf Czapek-Agar trotz ausgefaulten und monatelang gewässerten Agars entschieden besser wuchsen als bei Verwendung von Dextrose und nicht gewässertem Agar. Nach Schopfer (1939) können Wirkstoffe im Zucker vorhanden sein; eine Maltose (reinst!) enthielt erhebliche Mengen von Aneurin.

Der Versuch wurde ähnlich den vorangehenden durchgeführt; als Grundsubstrat diente ebenfalls Raulin-Dierckx mit 2 % ausgewaschenem Agar. Die Zuckerkonzentration betrug jeweils 3 %.

Aus dem Kurvenbild (Abb. 16) gehen die quantitativen Ergebnisse in bezug auf die Höhe der Trockengewichte hervor. Es kann daraus geschlossen werden, daß in der verwendeten Saccharose geringe Mengen von Vitamin $B_1$ enthalten waren. (Es handelte sich um ein gewöhnliches Handelsprodukt von Rübenzucker.) Der Gehalt an Aneurin, berechnet aus der Ertragskurve, betrug ungefähr 0,7 bis 1,0 $\gamma$ $B_1$ je 100 g Zucker. Im Bereich optimaler Wirkstoffgaben 0,1 bis 1 $\gamma$ $B_1$/10 $cm^3$ NB war die Höhe des Ertragsgewichtes bei Saccharose und Dextrose fast gleich. Bedeutend geringer, etwa ein Drittel von diesen, war sie bei Verwendung von Lactose. Wurde in einer anderen Versuchsreihe die Lactosemenge auf fast das Doppelte erhöht, erreichte die Ertragskurve nahezu die gleiche Höhe wie bei der Saccharose und Dextrose in diesem Versuch. Anscheinend vermochte der Pilz nur den Glukosebestandteil des Lactosemoleküls zu verwerten, was nochmals unter Verwendung von Galaktose überprüft werden müßte.

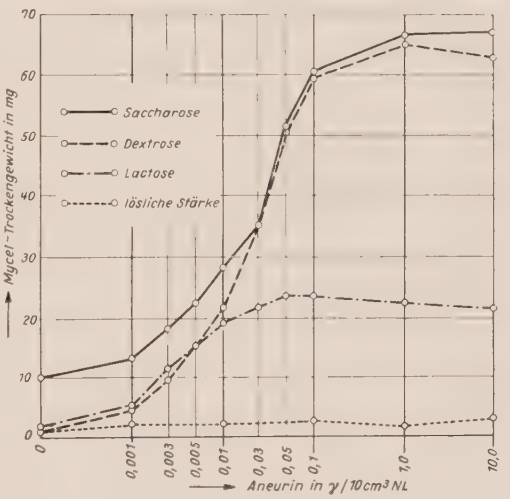


Abb. 16. Wachstumsintensität des Stammes OpA I/3 bei steigender Vitamin-$B_1$-Konzentration und verschiedenen C-Quellen

Auffallend war wieder in der Dextrose- und Saccharosereihe eine starke Farbstoffbildung, welche ihre Grenze zwischen 0,1 und 1,0 $\gamma$ Vitaminzugabe hatte. Dagegen war die Färbung der Lactosereihe durchgehend zart blaßrosa und zeigte sich nicht von bestimmten Aneurinkonzentrationen abhängig.

### 3. Die Veränderung der physikochemischen Umweltbedingungen

#### a) Die Azidität des Nährsubstrates

EIFFERT stellte fest, daß *P. tracheiphila* bei einem pH von 4,3 bis pH 5,7 das beste Myzelwachstum zeigte. Er verwendete eine Nährlösung, welche nur aus wechselnden Mengen NaOH, $H_3PO_4$ und Zucker bestand. Es ist aber zweifelhaft, ob der Pilz auf diesem Mangelsubstrat dasselbe Wachstumsoptimum zeigt, wie auf einem optimalen Nährsubstrat.

Die verschiedenen Aziditätsstufen wurden durch ein Puffergemisch, in Anlehnung an DRAWERT (1937), erzielt.

Die Nährlösung enthielt:

| | | | |
|---|---|---|---|
| $NaNO_3$ | 2,0 g | Saccharose | 30,0 g |
| KCl | 1,0 g | $H_2O$ | 500 cm³ |
| $MgSO_4$ | 0,5 g | $\gamma$ $B_1$ | 1000 |
| $FeSO_4$ | Spur | Reblaubdekokt | 0,5 % |

Sie wurde mit der Pufferlösung 1 : 1 gemischt. Die pH-Messung erfolgte elektrometrisch.

Je vier Erlenmeyerkolben wurden mit 25 cm³ Nährlösung-Puffergemisch beschickt und sterilisiert, das Puffergemisch erst danach zugegeben und das Gemisch in den Petrischalen kurze Zeit im Dampftopf erhitzt. Auf diese Weise wurde eine Hydrolyse des Agars verhindert.

Das Myzel in den Erlenmeyerkolben wurde nach 30 Tagen gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Durchmesser der Kolonien des mit Agar versetzten Puffergemisches wurden nach 20 Tagen gemessen.

Die Ergebnisse beider Versuchsreihen stimmen gut überein (siehe Kurvenbild Abb. 17). Erstaunlich ist, daß sich der Pilz auch auf den stark alkalischen Substraten behaupten kann, wenn auch sicher eine Abnahme der alkalischen Reaktion dieser Nährlösungen durch das $CO_2$ der Luft erfolgt. Die Nährlösungen mit dem Ausgangs-pH 2,57 und pH 2,95 waren durch die Einwirkung des Pilzes tief dunkelbraun verfärbt worden, während alle anderen vollkommen farblos geblieben waren. Die mikroskopische Wuchsform war nur verhältnismäßig kleinen Änderungen unterworfen. Die stärker sauren Substrate verursachten Säureschädigungen — die in einem „knorrigen" Wuchsbild der Hyphen bestanden —, wie sie in ähnlicher Form schon für verschiedene Schimmelpilze beschrieben worden sind. Die Änderungen des mikroskopischen Wuchsbildes durch Variation der Azidität waren jedoch bei weitem nicht so bedeutend, wie sie z. B. durch wechselnde Wirkstoffgaben zu beobachten waren.

#### b) Änderung der Konzentration der zugesetzten Kohlenhydrate und des Gelierungsmittels auf das Wuchsbild

Der große Einfluß, den diese Faktoren auf das Aussehen des Pilzes haben, ist von ZILLIG und NIEMEYER (1929) schon angedeutet und von EIFFERT weiter untersucht worden. Den Ergebnissen des letzten haftet wieder-

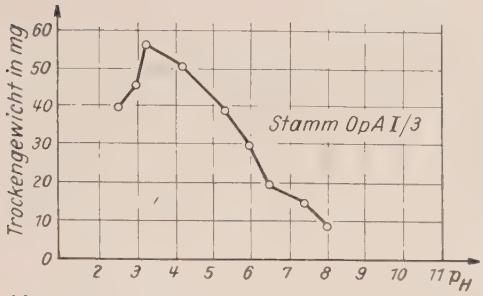


Abb. 17 a. Wachstumsintensität bei wechselnder Azidität. Myzeltrockengewicht in Flüssigkeitskulturen

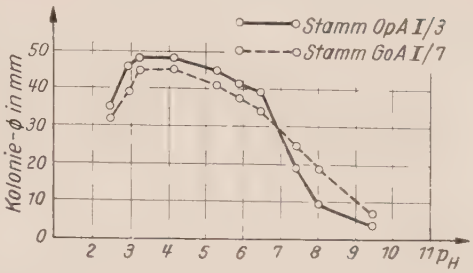


Abb. 17 b. Wachstumsintensität bei wechselnder Azidität. Durchmesser der Kolonien bei festem Nährboden.

*Tabelle 4*

Das Verhalten des Stammes „OpAI/3" auf Czapek-Agar + $10^{-1}$ γ Aneurin/10 $cm^3$ NB mit steigendem Zuckergehalt

| Saccharose-Konz.% (Myzelgewicht in mg) | Kolonie-Ø in mm | Mikroskopisches Wuchsbild | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Verlauf | Hyphen-Verzweigung | Septierung | Rand-beschaffenheit |
| 0,0 (—) | 3—5 | sehr stark geschlängelt | fast nicht | nicht | nur wenige Hyphen |
| 0,12 (3.5) | 25 | stark geschlängelt und gewunden, viele spiralige Aufrollungen | wenig, nur langästig | sehr spärlich | unregelmäßig und langfaserig |
| 0,5 (11,5) | 40 | stark geschlängelt, sehr viele Spiralen | wenig, fast nur langästig | spärlich | unregelmäßig und langfaserig |
| 1,5 | 38 | stark geschlängelt, viele Spiralen | wenig | spärlich | zottig |
| 2,0 (35,0) | 37 | geschlängelt, Spiralen vorhanden | wenig | schwach | zottig bis fransig |
| 4,0 (47,0) | 28 | ± unregelmäßig geschlängelt, wenig bis sehr wenig Spiralen | stärker verzweigt | „normal" | fransig |
| 8,0 (51,0) | 26 | vereinzelt geschlängelt, fast keine Spiralen | stark knorrig und hirschgeweihförmig | stark | glatt |
| 16,0 (46,0) | 25 | gerade, keine Spiralen | stark kurz- und langästig verzweigt | stark | glatt |

um, wie seinen meisten anderen Versuchen, der Nachteil an, daß sie nur mit Mangelsubstraten erfolgten. In den vorhergehenden Abschnitten ist zur Genüge gezeigt worden, wie empfindlich gerade der Rotbrennerpilz gegenüber

dem Wirkstoffgehalt des Substrates reagiert. Geradezu verblüffend ist ebenso die Erscheinung, wie sich *P. tracheiphila* auf eine Konzentrationsänderung der oben angegebenen Bestandteile des Nährsubstrates verhält. Die Variation der angegebenen Bestandteile vermag das makroskopische wie das mikroskopische Wuchsbild, die Ausbildung der spiraligen Aufrollungen, das Auftreten von „Pseudoapothecien" usw. dermaßen zu verändern, daß man vermeint, einen anderen Pilz vor sich zu haben.

*Tabelle 5*

Wuchsform des Stammes „OpAI/3" auf Malzagar bei wechselndem Agargehalt

| Agarkonzentration in % | Kolonie-Ø in mm | Mikroskopische Wuchsform | | Pseudoapothecienbildung |
|---|---|---|---|---|
| | | Hyphenverlauf | Verzweigung und Septierung | |
| 0,25 | 50 | wenig geschlängelt, spiralige Aufrollungen vorhanden, nur Substratmyzel | langästig verzweigt, normal septiert | wenige Apothecien, 2—3 mm Ø |
| 0,50 | 50 | wenig geschlängelt, viele Spiralen, fast nur Substratmyzel | langästig verzweigt, normal septiert | wenige Apothecien, 2 mm Ø |
| 1,0 | 45 | leicht und etwas unregelmäßig geschlängelt, viele Spiralen, fast nur Substratmyzel | hauptsächlich langästig verzweigt | etwa 80 Apothecien, 1—1,5 mm Ø |
| 2,0 | 45 | gleichmäßige Schlängelung, viele Spiralen, etwas Luftmyzel | lang- und kurzästig verzweigt | die ganze Kultur gleichmäßig mit Apothecien bedeckt |
| 4,0 | 45 | knorrige Schlängelung, Luftmyzel in der Mitte, aber auch Substratmyzel | stärker kurz- und langästig knorrig verzweigt | wie oben, jedoch noch kleiner, nur wenige Hüllhyphen |
| 8,0 | 40 | knorrig geschlängelt, fast keine Spiralen, fast kein Substratmyzel, nur Luftmyzel | — | keine Apothecienbildung |
| 12,0 | 38 | keine Spiralen, kein Substratmyzel | — | „ „ |
| 16,0 | 23 | kein Substratmyzel | — | „ „ |

In den Tabellen 4 und 5 sind die Ergebnisse kurz zusammengefaßt. Bei Erhöhung des Zuckergehaltes — ähnlich wirkt eine Erhöhung der Konzentration des Agars — geht der Pilz immer mehr zur Bildung von Luftmyzel über. Bei höheren Zucker- bzw. Agarkonzentrationen (ab 4 %) unterbleibt auch die Bildung der „spiraligen Aufrollungen", die, wie dargelegt, der Anfang der Bildung von Apothecien sind.

## E. Besprechung der Ergebnisse

Die vorliegende Arbeit hat vor allem orientierenden Charakter. Sie soll als Grundlage zur Bearbeitung einer Reihe spezieller Fragen dienen, wie sie im Rahmen praktischer Aufgaben der Bekämpfung und Züchtung rotbrennerfester Sorten auftreten können.

Der erste Teil war der Entwicklungsgeschichte und den Bedingungen der Apothecienbildung gewidmet. Obwohl die hier beschriebenen Ergebnisse zum Teil noch als vorläufig angesehen werden müssen, bieten sie doch die Möglichkeit zu gewissen Betrachtungen und gestatten, eine Reihe von Schlußfolgerungen über den Entwicklungszyklus von *P. tracheiphila* zu ziehen.

*P. tracheiphila* ist homothallisch. Dieses stellte auch schon Eiffert fest, ohne jedoch die Versuche von Müller-Thurgau, aus denen diese Tatsache schon hervorgeht, zu erwähnen und nähere Angaben über die Sexualität des Pilzes zu machen. Wie gezeigt wird, scheinen die Sexualvorgänge stark reduziert zu sein. Das Ascogon ist zurückgebildet und übt eine Funktion als solches wohl auch nicht mehr aus. Es ist nicht mehr der Ort, wo die Vereinigung der Kerne erfolgt, sondern leitet nur noch den Beginn der Apothecienentwicklung ein. Antheridien wurden nicht gefunden und werden wohl nicht mehr ausgebildet. Unklar sind Ort und Umstände der Dikaryotisierung der Hyphen geblieben. Anastomosen, die vermutlich aber nur rein vegetativer und ernährungsphysiologischer Natur sein dürften, kommen teilweise in den Kulturen vor. Dikaryotische Zustände der Hyphen wurden schon kurz nach dem Auskeimen der Ascosporen, wo nachweislich noch keine Anastomosen auftraten, in den Keimschläuchen gesehen. Das Vorhandensein von Dikaryophasen sofort nach dem Auskeimen der Ascosporen ist für *Neurospora tetrasperma* bekannt (Schönefeld 1935). Der Zustand wird in diesem Falle durch Zweikernigkeit der Ascosporen erreicht. Die Frage, wie die Paarkernphase in den Hyphen bei *P. tracheiphila* schon kurz nach dem Auskeimen der Sporen zustande kommt, steht noch offen. Ebenso bleibt noch zu überprüfen, ob sich der dikaryotische Zustand auf verschiedenen Substraten mit verändertem Wirkstoffgehalt, vor allem aber beim Auskeimen auf dem Blatt, in gleicher Weise zum gleichen Zeitpunkt kurz nach dem Auskeimen der Ascosporen einstellt. Für *Ustilago nuda* bewies Thren (1942), daß der Wirkstoffgehalt für das Auftreten der verschiedenen Entwicklungszustände (Paarkernmyzel) von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Rätselhaft blieben weiterhin die eigenartigen Kernteilungsbilder, oder vielleicht besser gesagt Kernzerfallsbilder, die sich beim Austreiben der Asci aus den ascogenen Zellen zeigten, in denen bereits die Verschmelzung der Kernpaare erfolgt war. Geben diese Vorgänge einen Hinweis zur Erklärung der mannigfaltigen Aufgliederung des Pilzes in jene Biotypen, die sich morphologisch oder in physiologischen Leistungen unterscheiden?

Mit Gäumann (1940) kann für die Entwicklung von *P. tracheiphila* gesagt werden, daß der Mechanismus der Ausbildung der Befruchtungsorgane, wenn diese auch reduziert sind, noch erfolgt, obwohl die Kerne in ihrem Ver-

halten diesem Zustand weit vorausgeeilt sind. Zwischen dem Verhalten der Kerne und der Ausbildung der Befruchtungsorgane besteht kein bestimmtes oder gar bestimmendes Verhältnis mehr.

Die Bedingungen der Apothecienbildung sind heterogener Natur. Daß dabei die Zusammensetzung des Substrates die grundlegende Rolle übernimmt, ist anzunehmen. Nur scheinen die Zusammenhänge mit anderen Bedingungen wesentlich komplizierter zu sein, als sie GIRBARDT (1952) für *Neurospora crassa* und *N. tetrasperma* fand, wo ein bestimmtes Verhältnis der Wirkstoffkonzentration und des Zuckergehaltes für eine Ausbildung der Perithecien mit reifen Ascosporen verantwortlich ist. Schon die Häufigkeit des Auftretens der ersten Apothecienanlagen ist an einen bestimmten Wirkstoffgehalt des Substrates gebunden, wobei aber die Einschränkung gemacht werden muß, daß ein Stamm sich nicht in das Verhalten der übrigen Stämme fügte und unabhängig vom Wirkstoffgehalt die spiraligen Aufrollungen in gleicher Menge ausbildete. Die Weiterentwicklung dieser Anlagen setzt wiederum Stoffe voraus, wie sie bisher nur im Malzextrakt gefunden werden konnten. Warum eine Entwicklung auf gedämpftem Reblaub möglich ist, aber auf Reblaubdekokten nicht beobachtet werden konnte, wurde nicht weiter verfolgt. Es besteht die Möglichkeit, daß hierbei das Verhältnis Zucker zu Wirkstoff nicht den günstigen Bedingungen entsprach.

Die Annahme einer notwendigen Ruheperiode zwischen dem vegetativen Wachstum und dem Einsetzen der Apothecienbildung besteht nicht zu recht, wie schon EIFFERT schrieb und die vorliegenden Versuche bestätigten. Der Feuchtigkeitsgrad ist nach ZILLIG und NIEMEYER sowie EIFFERT der wichtigste Faktor der Apothecienbildung. Es darf bei diesem Urteil aber nicht vergessen werden, daß ein gewisser Feuchtigkeitsgrad schon für das gesamte vegetative Wachstum unbedingt nötig ist. Entscheidend für die Bildung der Apothecien sind folgende Bedingungen. Dabei werden die Voraussetzungen der Pseudoapothecienbildung auf Malzagar mit in Betracht gezogen, von welchen angenommen wird, daß sie den Bedingungen des natürlichen Substrates ähnlich sind.

In allen Fällen wird nötig sein:

1. Das Vorhandensein bestimmter Stoffe (Wirkstoffe).
2. Eine Erschöpfung des Nährsubstrates an bestimmten Stoffen, wenn auch noch eine nachträgliche geringe Gewichtszunahme der Trockensubstanz erfolgt. Auch auf dem Rebblatt muß eine Erschöpfung der Nährsubstrate eingetreten sein, bevor die Entfaltung der Apothecien in Gang kommt.
3. Der Eintritt der Apothecienbildung ist somit von der Menge des vorhandenen Substrates abhängig. Die Myzelmenge muß aber ein gewisses Gewicht an Trockensubstanz erreicht haben, bei geringsten Substratmengen tritt keine Apothecienbildung ein.
4. Trotz der unterschiedlichen Wachstumsintensität der einzelnen Stämme besteht für alle die gemeinsame Bedingung, daß unter gleichen Außeneinflüssen und gleichen Ernährungsbedingungen eine bestimmte, für alle

Stämme gleiche Menge an Trockensubstanz erzeugt sein muß, bevor die Apothecienbildung einsetzt.

Die Formenanalyse einer Anzahl isolierter Stämme förderte ein unübersehbares idiotypisch heterogenes Material zutage. Gesonderte Kulturen der Sporen aus einem Ascus ergaben ungleiche Stämme, was auf postreduktive Spaltung komplizierter Heterozygoten schließen läßt.

Zur Prüfung der Modifikabilität eines Stammes und Sicherstellung der Ergebnisse der Formenanalyse wurde dieser auf verschiedenen Substraten gezogen. Das Ergebnis war eine große Schwankung des makro- und mikroskopischen Wuchsbildes. Die Abweichungen, welche die verschiedenen Stämme voneinander haben, beruhen nicht auf modifikativen Veränderungen durch Umwelteinflüsse, denn die Parallelkulturen eines Stammes (oder Klones) zeigten eine verblüffende Übereinstimmung im Habitus und auch im physiologischen Verhalten. Die Charakterisierung der einzelnen Stämme wird aber durch ihr labiles Verhalten gegenüber Umweltverhältnissen sehr erschwert.

Als Hauptursache der großen Variationsbreite kann der wechselnde Wirkstoffgehalt des Nährsubstrates angenommen werden, welcher nur sehr schwierig konstant zu halten ist und dessen Zusammensetzung bereits weitgehend durch den jeweiligen Sterilisationsvorgang verändert werden kann.

*P. tracheiphila* erwies sich als Aneurin-heterotroph, was für ihn als hochspezialisierten Parasiten zu erwarten war. Wie weit der Syntheseverlust fortgeschritten ist, ob nur das ganze Aneurinmolekül oder auch die Komponenten Pyrimidin und Thiazol zu einem normalen Wachstum verarbeitet werden können, konnte noch nicht festgestellt werden.

Das abnorme Verhalten des Pilzes bei Zugabe überoptimaler Vitaminmengen könnte auch auf gewissen Verunreinigungen des Präparates beruhen, wie es auch Thren (1942) für *Ustilago nuda* bei einem Präparat feststellte.

Der Farbstoffgehalt wird wesentlich durch den Aneuringehalt beeinflußt; ob hier eine primäre Wirkung des Aneurins oder ob sekundäre Folgen des von Aneurin abhängigen Kohlenhydratstoffwechsels die Ursache sind, läßt sich noch nicht sagen.

Obwohl das Wachstum durch Aneurin gegenüber den Kontrollen eine starke Beschleunigung erfährt, bewirken geringe Zusätze von Hefeautolysat oder Malzextrakt zu optimalen Mengen Vitamin $B_1$ weiterhin ein Steigen der Wachstumsintensität. *P. tracheiphila* benötigt also für optimale Wachstumsbedingungen außer Aneurin noch andere Wirkstoffe, die in genügender Menge in kleinsten Hefeextraktkonzentrationen vorkommen. Durch diese Zusätze erfährt die Farbstoffbildung gleichfalls wieder bedeutende Änderungen, die je nach der Herkunft der Zusätze sehr variabel sein können.

Die Prüfung verschiedener Herkünfte des Pilzes (auch Stämme) ergab gewisse Unterschiede im Wirkstoffbedürfnis, besonders in der Zusammensetzung der einzelnen Komponenten des benötigten Wirkstoffkomplexes.

Änderungen in der Azidität der Nährlösung vermag sich *P. tracheiphila* weitgehend anzupassen. Der Einfluß wechselnder Konzentrationen des Zuckers und des Gelierungsmittels ist größer und beruht anscheinend auf der Er-

höhung des osmotischen Wertes des Nährsubstrates bzw. auf der Erniedrigung der Dampfspannung.

Welche Aussagen können nun mit Hilfe der erzielten Ergebnisse über die Variabilität des Pilzes gemacht werden?

Behandeln die vorliegenden Untersuchungen auch vorwiegend die modifikative Variabilität von *P. tracheiphila* und nur wenig die genotypisch bedingte Variabilität, so geben sie doch eine gewisse Grundlage für die weiteren Untersuchungen, die diese betreffen. Immerhin kann gesagt werden:

*P. tracheiphila* stellt in morphologischer und physiologischer Hinsicht keine einheitliche Form dar, sondern besteht aus einer mannigfaltigen Population von Typen mit verhältnismäßig großer Variationsbreite. Bestimmte geographisch isolierte Rassen wurden nicht gefunden. In beiden geographisch verschiedenen Herkünften (Mosel und Saale) traten ähnliche Typen (Zwergformen) auf.

Die Modifikabilität des Pilzes ist groß und wird hauptsächlich von den im Substrat vorhandenen Wirkstoffen beeinflußt und reagiert sehr empfindlich auf die Veränderung der Umweltbedingungen.

Die Frage, wie in Anbetracht der Homothallie und der starken Reduktion der Sexualorgane die beobachtete Formenmannigfaltigkeit entsteht, konnte nicht beantwortet werden, wenn auch einige Anhaltspunkte gefunden worden sind.

Somatische Mutationen, welche EIFFERT mit einer Häufigkeit von 7 % beobachtet haben wollte, waren in meinen Versuchen nicht zu finden. Es ist wahrscheinlich, daß die von ihm gefundenen somatischen Mutationen, welche sich zumeist in einer erhöhten Wachstumsrate äußerten, Infektionen mit wirkstoffspendenden Bakterien waren, die auch gelegentlich in meinen Versuchen diese Erscheinung hervorbrachten und anfänglich zu derselben Täuschung führten.

Im Gegensatz zu der Mutationsfreudigkeit nach EIFFERT erwiesen sich die Eigenschaften der Stämme über einen längeren Zeitraum sehr konstant, wie auch die Reaktionen und Formbildungen paralleler Kulturen eines Klones immer von verblüffender Gleichheit waren.

Zur Frage der Züchtung von Reben, welche gegen den Roten Brenner resistent sein sollen, muß aus den Erfahrungen meiner Untersuchungen auf große Schwierigkeiten hingewiesen werden. Der Pilz wird sich mit Hilfe seiner großen Variabilität (Modifikation) ein breites Wirtsspektrum sichern können, was er schon bewiesen hat, indem er bisher alle bekannten Rebenarten und Rebensorten mit wechselnder Häufigkeit zu befallen vermochte und auch vor *Ampelopsis* nicht haltmachte. Damit können die von EIFFERT aufgestellten Befunde der großen Variabilität des Pilzes bestätigt werden, wenn er die hauptsächlichen Gründe der modifikativen Veränderung auch nicht erkannte und meine Ergebnisse durch sein Arbeiten mit Mangelsubstraten auch nicht in direkte Beziehungen gebracht werden können.

Die Myzelien scheinen durchweg homothallisch zu sein, so daß mit der Zeit auch beständige Homozygoten herausspalten könnten. Aus welchen

Gründen das Ganze eine genotypisch stark variierende Population von Heterozygoten bleibt, ist noch unbekannt. Daß es so ist, resultiert aus den Tatsachen, daß jeder aus einer Einsporkultur vermehrte Stamm einen Biotyp für sich darstellt. Er verbleibt, mit Myzelstückchen vermehrt, in sich beständig, ist aber mit keinem anderen Stamm identisch und spaltet nach einer Ascosporenfruktifikation in eine noch nicht übersehbare Anzahl morphologischer Typen auf.

## Zusammenfassung

Zur weiteren Vertiefung und Vervollkommnung der Erkenntnisse über die Biologie des Erregers des Roten Brenners der Weinrebe — *Pseudopeziza tracheiphila* — wurden Untersuchungen in verschiedener Richtung durchgeführt, die als Grundlagen für eine spätere Resistenzzüchtung dienen sollen.

Ergebnisse:

1. Die Apothecienbildung ist von einer Reihe von Bedingungen abhängig: Dem Vorhandensein bestimmter Stoffe im Substrat, der Menge dieses Substrates, einer Mindestgröße des Myzels, einem bestimmten Verhältnis der Menge an gebildeter Trockensubstanz zum Nährsubstratrest und von der Feuchtigkeit. „Pseudoapothecien" auf Malzagar-Kultur und die Bedingungen ihrer Entstehung werden beschrieben.
2. Die Entwicklung des Pilzes verläuft stark vereinfacht. *P. tracheiphila* erweist sich als homothallisch. Die Sexualorgane sind stark zurückgebildet und „funktionslos". Somatogene Kopulation der Hyphen wurde nicht gefunden, die Hyphen erscheinen kurz nach dem Auskeimen der Ascosporen bereits im dikaryotischen Zustand.
3. Die Formenanalyse einer Anzahl von Einsporstämmen ergab eine Aufgliederung in eine Vielzahl von Biotypen, die sich in morphologischer und physiologischer Hinsicht zum Teil stark voneinander unterschieden. Teile eines Klones (Stammes) zeigen übereinstimmende Reaktionen auf veränderte Bedingungen.
4. Durch Kulturversuche auf verschiedenen natürlichen und künstlichen Substraten wurde festgestellt, daß *P. tracheiphila* zum normalen Wachstum einen Zusatz von Wirkstoffen benötigt.
5. Zusatz von Aneurin zu synthetischen Nährböden förderte das Wachstum beträchtlich. Eine zusätzliche Beschleunigung trat ein, wenn geringste Mengen Hefeextrakt zu optimalen Aneurinmengen hinzugefügt wurden. Außer Vitamin $B_1$ benötigte *P. tracheiphila* noch andere Wirkstoffe, wenn ein optimales Wachstum erreicht werden soll.
6. Unterschiede in der Zucker- und Agar-Konzentration bewirken eine starke Änderung der Wuchsform.
7. Die große Variationsbreite des Pilzes und die außerordentlichen Schwankungen durch Umwelteinflüsse werden im Hinblick auf die Möglichkeiten des Erfolges einer Züchtung resistenter Rebsorten besprochen.

Herrn Prof. Dr. H. WARTENBERG danke ich für die Anregung zu diesem Thema und für die Unterstützung während der Arbeit. Gleichfalls bin ich Herrn Dr. GOLLMICK-Naumburg für viele Anregungen zu Dank verpflichtet.

## Literaturverzeichnis

1. DRAWERT, H., 1937: Das Verhalten der einzelnen Zellbestandteile fixierter pflanzlicher Gewebe gegen saure und basische Farbstoffe bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration. Flora **132**, 91.
2. FRIES, N., 1938: Über die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. Symb. Bot. Upsaliensis III: 2.
3. GÄUMANN, E., 1940: Neuere Erfahrungen über die Entwicklungsgeschichte der Ascomyceten. Z. Bot. **35**, 433.
4. GIRBARDT, M., 1952: Zur Frage der Fertilität bei *Neurospora crassa* und *Neurospora tetrasperma* in Abhängigkeit von Außenfaktoren. Flora **139**, 477.
5. HENNIGER, H., 1952: Studien zur Entwicklung und Variabilität von *Pseudopeziza tracheiphila* Müll.-Thurg. (Erreger des Roten Brenners der Weinrebe). Dissertation Univ. Jena.
6. HUSFELD, B. und SCHERZ, W., 1934: Neuaufbau der Rebenunterlagezüchtung. Züchter **6**, 280.
7. — —, — —, 1934: Rebenzüchtung. Naturwissenschaften **22**.
8. JANKE, A., 1939: Die Wuchsstoff-Frage in der Mikrobiologie. Cbl. Bact. II, **100**, 409.
9. — —, 1946: Arbeitsmethoden der Mikrobiologie, Bd. I. Dresden und Leipzig.
10. LÜSTNER, G., 1903: Untersuchungen über den Roten Brenner des Weinstockes. Ber. d. Lehranst. Geisenheim, S. 190, zitiert nach ZILLIG und NIEMEYER 1929.
11. MÜLLER-THURGAU, H., 1903: Der rote Brenner des Weinstockes. Cbl. Bact. II, **10**, 1. **10**, 1.
12. — —, 1913: Der rote Brenner des Weinstockes. II. Teil. Cbl. f. Bact. II, **38**, 586.
13. NANNFELDT, J. A., 1938: Studien zur Morphologie und Systematik der nichtlichenisierten inoperculaten Discomyceten. Nova Acta R. Soc. Sc. Upsal., Ser. IV 8, Nr. 2, 368 S.
14. RUDOLPH, W., 1948: Vitamine der Hefe. 4. Aufl. Stuttgart 1948.
15. SCHÖNEFELDT, M., 1935: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen bei *Neurospora tetrasperma* und *Neurosperma sitophila*. Z. indukt. Abst.- u. Vererbgslehre **69**, 193.
16. SCHOPFER, W. H., 1939: Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen mit besonderer Berücksichtigung des Vitamins $B_1$. Ergebn. Biol. **16**, 1.
17. THREN, R., 1942: Zur Entwicklungsphysiologie der Dikaryophase von *Ustilago nuda* (Jensen) Kellerm. et Sw. Die Bedeutung des Aneurins und seiner Komponenten. Arch. f. Mikrobiologie **12**, 192.
18. ZILLIG, H., 1949: Das Auftreten des Roten Brenners an Weinreben im Jahre 1948. Der Weinbau **4**, 76.
19. — —, 1950: Das Auftreten des Roten Brenners im Jahre 1949. Der Weinbau **5**, 121.
20. — — und NIEMEYER, L., 1929: Beiträge zur Biologie und Bekämpfung des Roten Brenners (*Pseudopeziza tracheiphila* Müller-Thurgau) des Weinstockes. Arb. Biol. Reichsanst. **17**, 1.

Aus dem Archiv der Biologischen Reichsanstalt, Zweigstelle Naumburg, lagen zwei unveröffentliche Arbeiten von EIFFERT aus dem Jahre 1939 vor:

EIFFERT, W.: Variabilität des Rotbrennerpilzes.
— —: Zur Fortpflanzungs- und Verbreitungsbiologie des Rotbrennerpilzes.

*Aus dem Institut für Pflanzenschutz der Landwirtschaftlichen Hochschule Stuttgart-Hohenheim*
*Direktor: Prof. Dr. B. Rademacher*

# Das saprophytische und parasitische Wachstum von *Ophiobolus graminis* Sacc. unter dem Einfluß verschiedener Fruchtfolgepflanzen und -maßnahmen

Von

F. Grossmann

Inhalt: A. Einleitung. — B. Allgemeines zur Methodik. 1. Die Prüfung der saprophytischen Entwicklung. 2. Die Prüfung der parasitischen Entwicklung. 3. Die variationsstatistische Sicherung der Ergebnisse. 4. Die untersuchten Kulturpflanzen und Pilzstämme. — C. Die Einwirkungen verschiedener Fruchtfolgepflanzen nach wechselnden Verfahren. 1. Vorversuche mit künstlichen Nährmedien; a) Zusatz zerkleinerten Pflanzenmaterials zu Biomalzagar; b) Die Wirkung wässeriger Extrakte. 2. Versuche im natürlichen Boden; a) Der bloße Zusatz von Pflanzenmaterial zum Boden; b) Die Wirkungen von Gründüngung; c) Vorfruchtwirkungen. 3. Besprechung der bisherigen Ergebnisse. — D. Untersuchungen über die ursächlichen Zusammenhänge bei Gründüngungs- und Vorfruchtwirkungen. 1. Die Beeinflussung des pH-Grades. 2. Der Einfluß anorganischer Nährstoffe. 3. Die direkten stofflichen Einwirkungen der Fruchtfolgepflanzen auf den Pilz; a) Versuche mit Senföl; b) Die Wirkungen wässeriger Extrakte in Sand; c) Untersuchung von Wurzelausscheidungen. 4. Die Bedeutung der allgemeinen Bodenmikroflora. 5. Besprechung. — Zusammenfassung. — Literaturverzeichnis.

## A. Einleitung

Die Mikroorganismen des natürlichen Ackerbodens stehen mit den Wurzeln der höheren Pflanzen und mit den abiotischen Faktoren des Bodens und des Bodenklimas in einer verwirrenden Vielfalt von Wechselbeziehungen. In phytopathologischer Hinsicht ist hierbei vor allem die gegenseitige Beeinflussung von angebauten Kulturpflanzen und bodenbewohnenden pathogenen Pilzen interessant. Diese Beeinflussung äußert sich u. a. darin, daß gewisse bodenbürtige Pflanzenkrankheiten in der Stärke ihres Auftretens von Vorfrucht bzw. Gründüngung abhängig sind.

Eine der wichtigsten bodenbürtigen Pilzkrankheiten des Weizens ist zweifellos die Schwarzbeinigkeit, verursacht durch *Ophiobolus graminis* Sacc. Es ist deshalb kein Wunder, wenn gerade für die Fruchtfolgeabhängigkeit dieser Krankheit zahlreiche Beobachtungen gesammelt worden sind. Diese Angaben stützen sich zum Teil auf Erfahrungen der praktischen Landwirtschaft, zum Teil auch auf exakte Versuche. Sie enthalten neben gewissen allgemein anerkannten Grundsätzen auch viele Widersprüche über den Wert bestimmter Vorfrüchte bzw. Gründüngungsmaßnahmen. Während über die Bedeutung der vier Getreidearten als Wirtspflanzen fast völlige Übereinstimmung herrscht, bestehen über den Vorfruchtwert solcher Kulturen, die nicht als Wirtspflanzen von *Ophiobolus* zu gelten haben, sowie über die Gründüngung mit solchen Früchten noch mancherlei Unklarheiten.

Dies mag überraschen angesichts der Tatsache, daß dieser Frage ja schon seit langem Aufmerksamkeit geschenkt worden ist, wird aber verständlicher, wenn man bedenkt, welch fast undurchdringlicher Komplex von Faktoren am Zustandekommen gerade einer Fußkrankheit beteiligt ist. Die Gründe für die Unsicherheit der Beurteilung lassen sich, abgesehen von den wechselnden Boden- und Klimaverhältnissen, im wesentlichen vielleicht in drei Punkten zusammenfassen:

1. Nicht nur bei Beobachtungen aus der Praxis, die ohnehin wohl nicht immer mit der nötigen Kritik interpretiert worden sind, sondern auch in exakten Untersuchungen ist es überaus schwierig, die durch Fußkrankheiten verursachten Schäden in einer Art und Weise zu bonitieren, welche allen Anforderungen gerecht wird. Auf diesen Umstand weisen besonders BROADFOOT (1934) und WINTER (1939) hin.

2. Als Erreger von Getreidefußkrankheiten kommt eine ganze Reihe von Pilzen in Betracht, so daß es sich bei den beobachteten Schäden häufig, wenn nicht in der Regel, um Mischinfektionen handeln dürfte, bei denen der Anteil der einzelnen Parasiten nicht mehr festzustellen ist (vgl. ZOGG 1951, WINTER 1951). BROADFOOT (1934, S. 95) schreibt wörtlich: „Perhaps only in exceptional cases does one of the fungi mentioned cause all the damage observed."

3. Vorfrucht und Gründüngung wirken, wie alle Kulturbedingungen, nicht nur auf den Erreger *Ophiobolus graminis*, sondern auch auf den nachfolgenden Weizen direkt ein, wodurch möglicherweise auch dessen Resistenz, Regenerationsvermögen usw. beeinflußt werden. COCHRANE (1948) nennt ein Beispiel, wonach toxische Bestandteile von Pflanzenrückständen unter Umständen selbst schon Symptome von Wurzelkrankheiten hervorrufen können.

All die genannten Fehlerquellen lassen sich umgehen, wenn man nicht die Symptome und Schäden an der Pflanze, deren Ausmaß ja sowohl vom Erreger als auch vom Wirt her bestimmt wird, sondern die Entwicklung des Parasiten selbst in den Mittelpunkt der Betrachtungen stellt. Nun sind gerade für *Ophiobolus graminis* in neuerer Zeit Methoden ausgearbeitet worden, welche es gestatten, das Wachstum dieses Pilzes im Boden sowohl in seiner saprophytischen als auch in seiner parasitischen Lebensphase zu studieren. Es erschien daher wertvoll, dem Einfluß von Vorfrucht bzw. Gründüngung mit Hilfe dieser Methoden einmal näher auf den Grund zu gehen.

Es handelt sich also in dieser Arbeit darum, aus dem vielseitigen Komplex „Fruchtfolge — bodenbürtige Pflanzenkrankheit" den viel enger umrissenen Zusammenhang „Fruchtfolge — pathogener Bodenpilz" herauszulösen.

## B. Allgemeines zur Methodik

Neben den Methoden zur Prüfung des saprophytischen und des parasitischen Wachstums von O. *graminis* sollen in diesem Abschnitt auch die Maßnahmen besprochen werden, welche angewandt wurden, um die Versuchsergebnisse variationsstatistisch auszuwerten, sowie die in dieser Arbeit untersuchten Kulturpflanzenarten und Pilzstämme.

### 1. Die Prüfung der saprophytischen Entwicklung

Hierfür hat WINTER (1947) eine Methode angegeben, die er als Impfplatten- oder auch Aufwuchsplatten-Methode bezeichnet. Sie wurde in den eigenen Versuchen folgendermaßen durchgeführt:

Auf sorgfältig gereinigte Objektträger wurden in regelmäßiger Verteilung je drei runde, mit einem Korkbohrer ausgestanzte, myzelbewachsene Agarscheibchen von 5 mm Durchmesser aufgebracht. Dann wurden die Objektträger in Petrischalen eingelegt und mit dem jeweils zu prüfenden Boden gleichmäßig bedeckt. Nach Verschluß der Schalen Aufstellung im Thermostaten bei hoher Luftfeuchtigkeit und Temperaturen um 20 bis 25° C. Die Versuchsdauer schwankte zwischen 15 und 27 Tagen.

Nach Abschluß der Versuche wurden die Objektträger vorsichtig aus der Erde herausgenommen. Anschließend wurde unter dem Mikroskop mit Hilfe des Kreuztisches in jeweils vier aufeinander senkrechten Richtungen gemessen, wie weit sich die am weitesten vorgedrungenen Hyphen vom Rande der einzelnen Impfscheibchen entfernt hatten (diese Werte werden in den Tabellen als saprophytisches Wachstum bezeichnet). Die *Ophiobolus*-Hyphen lassen sich bei einiger Übung an ihrem charakteristischen Aussehen gut erkennen und von anderen Bodenpilzen, die sich auf den Impfplatten ansiedeln, unterscheiden. Bei den unvermeidlich großen Schwankungen der Einzelwerte ist eine große Zahl von Parallelmessungen erforderlich. Jeder Versuchswert stellt daher das Mittel aus 50 bis 60 Einzelmessungen dar.

### 2. Die Prüfung der parasitischen Entwicklung

*Ophiobolus graminis* breitet sich nach erfolgter Infektion im wesentlichen nicht in den Wurzeln, sondern in Gestalt der sogenannten Laufhyphen auf der Oberfläche derselben aus. Diesen Umstand haben GARRETT (1936) und nach ihm WINTER (1939) benützt, um eine Methode zur Messung des parasitischen Wachstums des Pilzes darauf aufzubauen, die auch in den eigenen Versuchen angewandt wurde.

Der zu untersuchende Boden wurde gleichmäßig in 1-Liter-Weckgläser eingefüllt. Dann wurden mit einem Glasstab jeweils neun (in späteren Versuchen 13) 15 mm tiefe Löcher gebohrt und auf deren Grund myzelbewachsene Agarscheibchen von 6,5 mm Durchmesser gebracht. Auf diese kamen dann einen Tag lang vorgekeimte Weizenkörner, und zwar so, daß das Keimende auf die Mitte des Scheibchens zu liegen kam, damit die auskeimenden Würzelchen dieses durchwachsen mußten. Zuletzt wurden die Gläser mit den zugehörigen Deckeln versehen und in einem feuchten Raum aufgestellt (ein nachträgliches Begießen, das die Bodenstruktur verändert hätte, wurde dadurch vermieden).

Versuchsdauer 16 bis 17 Tage. Nach dieser Zeit wurden die Pflanzen aus der Erde herausgenommen, vorsichtig abgespült, und schließlich an jeder Pflanze die drei ältesten, gleichzeitig austreibenden Keimwurzeln abgetrennt. Unter dem Binokular (60×) wurde dann gemessen, wie weit die dunklen Laufhyphen von *Ophiobolus* an diesen Wurzeln herabgewachsen waren (in den Tabellen als parasitisches Wachstum bezeichnet). Jeder Versuchswert stellt das Mittel aus mindestens 30, teilweise bis zu 50 Einzelmessungen dar.

### 3. Die variationsstatistische Sicherung der Ergebnisse

Angesichts der erwähnten, teilweise erheblichen Schwankungen der Einzelwerte schien es notwendig, die Ergebnisse rechnerisch zu sichern. Es wurde daher zu allen Mittelwerten der sogenannte mittlere Fehler berechnet.

Bei den tabellarischen Zusammenstellungen der Versuchsergebnisse werden ferner in der Rubrik „Statistische Sicherung" Angaben darüber gemacht, ob und in welchem Grade

die Differenz der einzelnen Ergebnisse zu den jeweils zugehörigen Kontrollen fehlerstatistisch gesichert ist. Die dabei verwendeten Abkürzungen haben folgende Bedeutung (nach MUDRA 1949):

| | | | |
|---|---|---|---|
| n | = Differenz | nicht gesichert | ($p > 5\ \%$) |
| sw | = „ | schwach „ | ($p = 5—1\ \%$) |
| gn | = „ | genügend „ | ($p = 1—0{,}27\ \%$) |
| gt | = „ | gut „ | ($p = 0{,}27—0{,}1\ \%$) |
| sgt | = „ | sehr gut „ | ($p < 0{,}1\ \%$) |

### 4. Die untersuchten Kulturpflanzen und Pilzstämme

Insgesamt wurden in der vorliegenden Arbeit die folgenden elf Kulturpflanzenarten untersucht: Sommer-Gerste, Hafer, Mais; Weißer Senf, Sommer-Raps; Ackerbohnen, Erbsen, Blaue Bitterlupinen, Saatwicken, Gelb- und Rotklee. Es handelt sich also um Arten aus drei verschiedenen Pflanzenfamilien, nämlich Gramineen, Cruciferen und Leguminosen.

Wo in einzelnen Untersuchungen zusätzlich noch andere Arten bzw. Formen verwendet wurden, ist dies besonders angegeben.

Für fast alle Versuche wurde der *Ophiobolus*-Stamm O 12 verwendet, der aus einer Ascosporen-Isolierung in Kiel-Kitzeberg hervorgegangen war. Dieser Stamm erwies sich in Vorversuchen gegenüber verschiedenen selbst isolierten Einsporen-Stämmen als stärker pathogen. Wo zu Vergleichszwecken ein weiterer *Ophiobolus*-Stamm benutzt wurde, ist dies ebenfalls ausdrücklich vermerkt.

## C. Die Einwirkungen verschiedener Fruchtfolgepflanzen nach wechselnden Verfahren

### 1. Vorversuche mit künstlichen Nährmedien

Um die Frage zu klären, ob in den verschiedenen Fruchtfolgepflanzen Stoffe enthalten sind, welche *Ophiobolus graminis* unmittelbar hemmen, wurden zunächst zwei Wege eingeschlagen: Einmal wurde das frische, zerkleinerte Pflanzenmaterial zu Agarnährböden zugesetzt; zum anderen wurden wässerige Extrakte daraus hergestellt und einer Nährlösung beigemengt.

Zu diesen Versuchsreihen wurden außer den schon erwähnten Arten auch Winter-Raps und eine Blaue Süßlupine herangezogen.

#### a) Zusatz zerkleinerten Pflanzenmaterials zu Biomalzagar

Methodik: Die verwendeten Pflanzen waren zwischen 4 und 13 Wochen alt. Nur Winterraps- und Rotkleepflanzen wurden im Frühjahr direkt aus Feldbeständen entnommen. Sämtliche Pflanzen wurden möglichst mitsamt den Wurzeln aus der Erde herausgenommen, gewaschen, fein zerkleinert und Sproß- und Wurzelteile gründlich vermischt.

Als Nährboden diente Biomalzagar (2 % Biomalz, 2 % Agar; pH etwa 5,5), der auch sonst der Heranzucht des Pilzes diente. Dieser wurde zu je 20 $cm^3$ in Petrischalen hineinpipettiert und anschließend je 2 g des zerkleinerten Pflanzenmaterials auf der Oberfläche verteilt. Die Kontrollen erhielten keinen Pflanzenzusatz. Dann Sterilisation im Autoklaven bei 1,5 atü.

Zur Beimpfung dienten wiederum kleine, myzelbewachsene Agarscheibchen von 4 mm Durchmesser, die in die Mitte der Schalen aufgebracht wurden. Sechsfache Wiederholung. Versuchsdauer fünf Tage bei den angegebenen Temperaturen. Danach wurde auf jeder Platte der Radius der gebildeten *Ophiobolus*-Kolonie vom Rande des Impfstücks aus in vier aufeinander senkrechten Richtungen gemessen. Jeder Versuchswert stellt das Mittel aus 16 bis 24 Messungen dar.

Ergebnisse: Sind in Tabelle 1 (a—e) zusammengefaßt. Aus technischen Gründen konnten die Versuche nicht, wie dies an sich wünschenswert gewesen wäre, auf einmal durchgeführt werden, sondern mußten auf verschiedene Abschnitte (hier also fünf) verteilt werden. Dasselbe gilt übrigens auch für die späteren Versuchsreihen. Um den Vergleich der einzelnen Resultate zu erleichtern, sind deshalb auch die relativen Zahlen angegeben worden (bezogen auf die jeweils zugehörige Kontrolle = 100). Dabei ist aber stets zu bedenken, daß auch relative Zahlen, wenn sie nicht aus gleichzeitig durchgeführten Versuchen stammen, sich also auch nicht auf die gleiche Kontrolle beziehen, nicht ohne Einschränkung vergleichbar sind. Dies wird schon daraus deutlich, daß die zugrunde gelegten Kontrollen unter sich Schwankungen aufweisen. Behält man jedoch diese Mängel im Auge, so bieten die relativen Zahlen immerhin eine brauchbare Grundlage zur Beurteilung der Ergebnisse.

*Tabelle 1*

Einfluß des Zusatzes von Pflanzenmaterial zu Biomalzagar auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*

| Zusatz von | Kolonienradius in mm | Relative Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|
| | a | | Temp. 22,5–24° C |
| Kontrolle | 35,5±0,64 | 100 | — |
| Hafer | 0 | 0 | sgt |
| Senf | 35,1±0,51 | 99 | n |
| Erbsen | 27,3±0,43 | 77 | sgt |
| | b | | Temp. 23–24,5° C |
| Kontrolle | 33,7±0,46 | 100 | — |
| Winter-Raps | 30,9±0,25 | 92 | sgt |
| Wicken | 30,8±0,39 | 91 | sgt |
| Rotklee | 0 | 0 | sgt |
| | c | | Temp. 24–25° C |
| Kontrolle | 32,4±0,57 | 100 | — |
| Mais | 33,0±0,28 | 102 | n |
| Sommer-Raps | 33,4±0,77 | 103 | n |
| Ackerbohnen | 28,5±0,50 | 88 | sgt |
| | d | | Temp. 25–25,5° C |
| Kontrolle | 35,0±0,48 | 100 | — |
| Gerste | 34,2±0,31 | 98 | n |
| Gelbklee | 0 | 0 | sgt |
| | e | | Temp. 25,5–26° C |
| Kontrolle | 40,0±0,92 | 100 | — |
| Blaue Bitterlupinen | 28,2±0,45 | 71 | sgt |
| Blaue Süßlupinen | 26,7±0,49 | 67 | sgt |

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, übt besonders die Gruppe der Leguminosen eindeutige Hemmwirkungen aus. Die beiden Kleearten unterdrücken bei der angewandten Konzentration die Entwicklung von *Ophiobolus* vollständig. Die großsamigen Arten reduzieren das Wachstum des Pilzes um rund 10 bis 30 %, am stärksten Lupinen, am schwächsten Wicken; Erbsen und Ackerbohnen stehen dazwischen. Interessant ist auch, daß die Ergebnisse von

Süß- und Bitterlupinen ziemlich übereinstimmen; der hemmende Einfluß scheint demnach nicht vom Alkaloidgehalt abzuhängen.

Von den Gramineen kommt nur dem Hafer eine allerdings 100%ige Hemmwirkung zu. Der Zusatz von Gerste und Mais ist praktisch ohne Einfluß.

Dasselbe gilt im wesentlichen auch für die Cruciferen.

Raps und Rotklee waren (neben anderen Arten) in ähnlicher Weise auch schon von MÜLLER-KÖGLER (1938) untersucht worden. Auch er erhielt bei Zusatz von Raps keine Hemmung, während bei Zusatz von Rotkleewurzeln das Pilzwachstum völlig unterbunden wurde.

### b) Die Wirkung wässeriger Extrakte

Beim Zusatz frischen Pflanzenmaterials zu Agar konnten auch in fester, wasserunlöslicher Form vorliegende Stoffe zur Wirkung gelangen. Andererseits bestand die Möglichkeit, daß durch die Sterilisation im Autoklaven stoffliche Umsetzungen eintraten: hitzelabile Substanzen konnten inaktiviert werden, während andere Hemmstoffe vielleicht erst durch die Erhitzung gebildet wurden. Die mit wässerigen Extrakten durchgeführten Versuche stellen nun insofern eine Ergänzung des vorigen Verfahrens dar, als dabei zwar nur die wasserlöslichen Stoffe erfaßt werden, andererseits aber Hitzeeinwirkung vermieden wird.

Methodik: Das verwendete Pflanzenmaterial entsprach dem der vorigen Versuchsserie. Es wurde aber hier nicht nur zerkleinert, sondern zusätzlich im Mörser fein zerrieben. Extraktion mit der doppelten Menge destillierten Wassers über Nacht. Dann Entkeimung des abgepreßten Saftes durch Membranschichten der Fa. Schleicher & Schüll (Nr. 1121).

Die für *Ophiobolus* verwendete Nährlösung hatte folgende Zusammensetzung:

3,0 % Biomalz
3,0 % Glukose
1,0 % Pepton
0,3 % $K_2HPO_4$

} zusammen gelöst in dest. Wasser; pH = 6.

Diese Lösung wurde zu je 50 cm³ in 100 cm³-Erlenmeyerkölbchen abgefüllt und sterilisiert. Dann wurden zu jedem Kölbchen 5 cm³ der keimfreien Pflanzenextrakte zugesetzt; die Kontrollen erhielten dieselbe Menge destillierten Wassers. Beimpfung mit Hilfe der üblichen, pilzbewachsenen Agarscheibchen von 4 mm Durchmesser. Vier- bis fünffache Wiederholung. Versuchsdauer 21 bis 22 Tage bei den angegebenen Temperaturen. Dann wurden die Myzele aus den Kölbchen herausgenommen, luftgetrocknet und gewogen.

Ergebnisse: Sind in Tabelle 2 (a—f) zusammengestellt. Gegenüber Tabelle 1 ergibt sich ein völlig verändertes Bild. Abgesehen von Gelbklee ist in allen Fällen eine mehr oder weniger ausgeprägte Förderung des Pilzes zu beobachten. Wenn die Mehrentwicklung auch nicht immer ausreichend gesichert ist, so ist die Tendenz im ganzen doch eindeutig. Man wird sich fragen, wie diese Erscheinung zu erklären ist. Bei dem an sich hohen Nährstoffgehalt der Nährlösung und der relativ geringen Menge der zugesetzten Extrakte (10 : 1) kommen reine Nährstoffwirkungen wohl nicht in Betracht. Wahrscheinlicher ist, daß es sich um Wuchsstoff-Effekte handelt,

zumal verschiedene Autoren (u. a. WHITE 1943, GÄUMANN 1946) feststellen, daß *O. graminis* teilweise wuchsstoff-heterotroph ist. AMSLER (1950) konnte bei seinen Untersuchungen mit einem anderen parasitären Pilz, *Ustilago violacea,* ähnliche Förderungen durch Pflanzenextrakte nachweisen und führt sie ebenfalls auf Wuchsstoffeinflüsse zurück.

Nur durch den Gelbklee-Extrakt wird *Ophiobolus* gehemmt, und zwar bei der angewandten Konzentration vollständig. In allen fünf Kölbchen wuchsen die Impfstücke in der Nährlösung überhaupt nicht an. Sie wurden nach Abschluß des Versuches herausgenommen und auf eine frische Biomalzagar-Platte übertragen. Auch dort zeigte der Pilz keinerlei Entwicklung mehr, war also wahrscheinlich abgetötet worden.

*Tabelle 2*

Einfluß wässeriger Pflanzenextrakte auf die Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in einer Nährlösung

| Extraktzusatz von | Myzelgewicht in mg | Relative Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|
| | a | | Temp. 25—27° C |
| Kontrolle | 468±24,6 | 100 | — |
| Senf | 543± 6,1 | 116 | sw |
| Erbsen | 596±45,4 | 127 | n |
| | b | | Temp. 24—26° C |
| Kontrolle | 524±19,8 | 100 | — |
| Hafer | 668±26,8 | 127 | gn |
| Winter-Raps | 671±31,0 | 128 | gn |
| | c | | Temp. 24,5–27° C |
| Kontrolle | 414±19,9 | 100 | — |
| Wicken | 678±38,9 | 164 | gt |
| Rotklee | 589±27,0 | 142 | gt |
| | d | | Temp. 25—26° C |
| Kontrolle | 587±42,1 | 100 | — |
| Mais | 790±22,1 | 135 | gt |
| Sommer-Raps | 780±49,4 | 133 | sw |
| Ackerbohnen | 693±15,4 | 118 | sw |
| | e | | Temp. 25—27° C |
| Kontrolle | 404± 3,8 | 100 | — |
| Gerste | 504±17,8 | 125 | sgt |
| Blaue Bitterlupinen | 509± 2,7 | 126 | sgt |
| | f | | Temp. 24,5–27° C |
| Kontrolle | 515± 9,8 | 100 | — |
| Blaue Süßlupinen | 673±15,0 | 131 | sgt |
| Gelbklee | 0 | 0 | sgt |

Bei der Beurteilung dieser Ergebnisse darf man nicht vergessen, daß das Verfahren mit den wässerigen Extrakten den Verhältnissen im Boden im Prinzip viel näher kommt als der im vorigen Abschnitt beschriebene Zusatz des Pflanzenmaterials zu Agar. Denn einmal wird auch im Boden keine Hitzeeinwirkung stattfinden, zum anderen werden nur wasserlösliche (oder

flüchtige) Stoffe zu einer breiteren Wirkung gelangen. Und zwar deshalb, weil nur solche Stoffe — sei es, daß sie von der Pflanze schon zu Lebzeiten ausgeschieden werden, sei es, daß sie nach deren Absterben mit den Ernterückständen oder vor allem in Form einer Gründüngung in den Boden gebracht werden — in die Bodenlösung übergehen und sich allgemein im Boden ausbreiten können. Feste, wasserunlösliche Wirkstoffe dagegen bleiben auf die Pflanzensubstanz beschränkt und kommen daher gar nicht an den irgendwo im Boden ausdauernden Pilz heran.

Nach diesen Überlegungen dürften aktive stoffliche Wirkungen gegen den Pilz im Boden höchstens für den Gelbklee in Frage kommen.

### 2. Versuche im natürlichen Boden

Versuche mit künstlichen Nährmedien können nur gewisse Anhaltspunkte geben, da sie sich von den natürlichen Verhältnissen stets mehr oder weniger weit entfernen. Die im Abschnitt 1 beschriebenen Versuche sollten ja auch nur dazu dienen, die direkten stofflichen Beziehungen zwischen den Kulturpflanzen und *Ophiobolus* anzudeuten. Sie waren nun durch Versuche im Boden selbst zu ergänzen.

Diese wurden in zwei Stufen durchgeführt. Zunächst wurden lediglich die verschiedenen Pflanzenmaterialien zu einem Boden hinzugefügt, der vorher nicht mit den betreffenden Kulturen bewachsen war. Bei den folgenden Untersuchungen dagegen handelt es sich um Böden aus Gefäß- bzw. Feldkulturen, welche die verschiedenen Pflanzenarten vom Anfang ihrer Entwicklung an getragen hatten und dann in irgendeiner Form weiterbehandelt wurden.

Grundsätzlich ist noch zu bemerken, daß in sämtlichen Versuchen, welche im Boden selber ausgeführt wurden, die Einwirkungen auf die saprophytische und die parasitische Lebensphase von *Ophiobolus* parallel studiert wurden. Dies geschah einmal, um die Ergebnisse auf eine breitere Basis zu stellen, zum anderen aus der Überlegung heraus, daß der Pilz im natürlichen Ackerboden prinzipiell in beiden Formen auftreten und daher auch in beiden Formen dem Einfluß von Vorfrucht bzw. Gründüngung unterliegen kann.

Alle diese Versuche wurden deshalb in der Weise durchgeführt, daß von den zu untersuchenden Böden ein Teil zur Prüfung des saprophytischen, ein anderer Teil zur Prüfung des parasitischen Wachstums entnommen wurde.

#### a) Der bloße Zusatz von Pflanzenmaterial zum Boden

Methodik: Als Versuchsboden diente ein Gemisch aus Lehm (schwerer Juralehm) und Sand im Verhältnis 1 : 1, das stets gleichmäßig auf 40 % seiner max. Wasserkapazität gebracht wurde.

Die verwendeten Pflanzen waren sechs bis acht Wochen alt, wurden wiederum mitsamt den Wurzeln aus dem Boden herausgenommen, gewaschen und in etwa 0,5 cm lange Stücke zerschnitten. Dann wurden sie in einer Menge von jeweils 1 % (nach Gewicht, bezogen auf den feuchten Boden) der oben beschriebenen Bodenmischung zugesetzt und gründlich mit ihr vermischt. Geht man nämlich von der bekannten Faustzahl aus, nach der 1 ha Ackerland ungefähr 3 Millionen kg Krumenboden enthält, so entspricht der angewandte Satz von 1 % einer Menge von 300 dz Grünmasse je Hektar. Diese Menge wird sich

allerdings auch bei einer gutgelungenen Gründüngung nur bei stärker massenwüchsigen Früchten erreichen lassen.

Nach dem Zusatz des Pflanzenmaterials (Kontrollen erhielten keinen Zusatz) blieben die Böden zunächst einmal zehn Tage stehen, um die Abbauvorgänge schon etwas in Gang kommen zu lassen. Dann erfolgte die Prüfung der saprophytischen und der parasitischen Entwicklung von *Ophiobolus* mit Hilfe der schon einleitend beschriebenen Methodik.

Ergebnisse: Die in Tabelle 3 (a—c) zusammengefaßten Resultate für die beiden Entwicklungsphasen bieten ein recht uneinheitliches Bild. Wenn auch im ganzen die hemmenden Einflüsse überwiegen, treten doch zwischen den einzelnen Pflanzenarten oft sprunghafte Unterschiede auf. Diese Unterschiede bestehen gerade auch zwischen Mitgliedern derselben Familien,

*Tabelle 3*

Einfluß des Zusatzes von 1% Pflanzenmaterial zu einem Lehm-Sand-Gemisch auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis*

| Zusatz von | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | a | | | | |
| Kontrolle | 2,4±0,27 | 100 | — | 23,3±0,75 | 100 | — |
| Gerste | 2,7±0,23 | 113 | n | 24,9±1,03 | 107 | n |
| Mais | 1,0±0,15 | 42 | sgt | 18,7±0,69 | 80 | sgt |
| Senf | 2,5±0,30 | 104 | n | 20,6±0,92 | 88 | sw |
| Ackerbohnen | 1,4±0,21 | 58 | gn | 23,7±1,07 | 102 | n |
| | | b | | | | |
| Kontrolle | 4,4±0,56 | 100 | — | 25,5±0,98 | 100 | — |
| Sommer-Raps | 3,3±0,30 | 75 | n | 19,5±0,79 | 76 | sgt |
| Erbsen | 4,5±0,44 | 102 | n | 21,2±0,95 | 83 | gn |
| Blaue Bitter-Lupinen | 3,0±0,42 | 68 | sw | 19,5±0,63 | 75 | sgt |
| Wicken | 2,4±0,26 | 55 | gn | 23,2±0,89 | 91 | n |
| | | c | | | | |
| Kontrolle | 4,8±0,43 | 100 | — | 22,3±0,66 | 100 | — |
| Hafer | 3,4±0,25 | 71 | gn | 28,4±0,94 | 127 | sgt |
| Gelbklee | 5,3±0,60 | 110 | n | 25,6±0,97 | 115 | sw |
| Rotklee | 7,6±0,58 | 158 | sgt | 25,0±0,72 | 112 | gn |

so daß sich eigentlich keine Gruppe mit besonders ausgeprägten Hemmwirkungen hervorheben läßt. Auch die Parallelität zwischen den Ergebnissen in der saprophytischen und in der parasitischen Phase läßt zu wünschen übrig. Man vergleiche nur die verschiedenartigen Wirkungen von Hafer, Ackerbohnen und Erbsen. Es scheint, als ob dem Zufall beim Zustandekommen der Ergebnisse ein erheblicher Spielraum überlassen war.

Diese Regellosigkeit der Ergebnisse, die auch durch andere, ähnlich durchgeführte Versuche bestätigt wurde, tritt auch dann noch hervor, wenn man die unvermeidlichen Zufallsschwankungen, welche in der Methodik begründet sind, berücksichtigt. Sie läßt sich kaum erklären unter der Annahme, daß die Wirkungen hauptsächlich durch direkte stoffliche Einflüsse des Pflanzenmaterials auf den Pilz zustande gekommen sind. Denn in diesem Falle

müßten die Resultate wesentlich einheitlicher sein. Dagegen gelingt die Erklärung besser unter der Voraussetzung, daß den mit dem Abbau des eingebrachten Pflanzenmaterials verbundenen Vorgängen die Hauptbedeutung zukommt. Bei der Vielfalt der im Boden auftretenden Mikroorganismen und bei ihrer bekannten, teils antagonistischen, teils synergetischen, gegenseitigen Abhängigkeit kann der Verlauf der Abbauvorgänge im Boden nämlich sehr unterschiedliche Richtungen einschlagen. Um so mehr deshalb, weil in diesen Versuchen der Boden nicht in bestimmter Weise auf den Abbau „vorbereitet" war, vor allem gar nicht zur Heranzucht der betreffenden Kulturen gedient hatte, sich also vor Einbringung des Pflanzenmaterials in irgendeinem, mikrobiologisch gesehen, zufälligen Zustand befand. Aus diesen Gründen konnte der in die Abbauprozesse hineingebrachte Pilz *Ophiobolus* sehr verschiedenartigen Einflüssen ausgesetzt sein, wenn auch bei seiner geringen saprophytischen Konkurrenzfähigkeit die hemmenden Faktoren im großen und ganzen überwogen.

### b) Die Wirkungen von Gründüngung

Methodik: Die in diesem sowie im folgenden Abschnitt 2c beschriebenen Versuche beruhen, wie schon erwähnt, auf Gefäß- und Feldkulturen, deren Anlage und Durchführung deshalb hier einmal vorausgehend besprochen werden soll.

Der Grundgedanke bei der Anlage dieser Kulturen war, die zu untersuchenden Fruchtfolgepflanzen unter völlig gleichartigen Bedingungen zu kultivieren, so daß die später zwischen den Böden zu beobachtenden Unterschiede nur das Ergebnis der verschiedenen Bewachsung bzw. Kultur sein konnten. Bei allen Anlagen blieb eine Anzahl von Töpfen bzw. Parzellen ohne Einsaat, entsprach also einer Brache. Diese Böden wurden in den späteren Untersuchungen als Kontrollen herangezogen.

Für die Gefäßkulturen wurde das schon im vorigen Abschnitt beschriebene Lehm-Sand-Gemisch 1 : 1 verwendet. Es wurde zu je 6 kg in Mitscherlich-Gefäße abgefüllt. Als Düngung wurden gleich bei Ansatz der Kulturen je Gefäß gegeben: 5,15 g $NH_4NO_3$; 10,0 g Thomasphosphat und 4,17 g $K_2SO_4$. Die für die Einsaat von Leguminosen vorgesehenen Gefäße erhielten keine Stickstoffgabe; bei den Kontrollen (Brache) wurde überhaupt keine Düngung vorgenommen. Aufstellung der Gefäße im Freien, nur durch ein Drahtgitter geschützt.

Im ersten Versuchsjahr (1951) wurden auf diese Weise die elf in Abschnitt B 4 genannten Kulturpflanzenarten kultiviert. Von diesen gediehen allerdings die Blauen Bitterlupinen nur sehr schlecht (vermutlich zu hoher pH-Grad des Bodens), so daß die für diese Art ermittelten Ergebnisse von zweifelhaftem Werte sind. Im zweiten Jahr (1952) wurden diese Versuche noch einmal mit Gerste, Senf und Gelbklee wiederholt. Es wurde also aus jeder Familie je eine Art beibehalten.

Ferner wurden im zweiten Versuchsjahr Gerste, Senf und Gelbklee auch auf dem Felde (schwerer Juralehm) in kleinen Parzellen in entsprechender Weise angebaut. Die Düngung war hier allerdings auf der ganzen Fläche einheitlich (2 dz/ha Kalkammonsalpeter; 1,6 dz/ha Superphosphat und 4 dz/ha 40 %iges Kalisalz). Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß hier also im Gegensatz zu den Gefäßkulturen auch die Kontrollparzellen und der Gelbklee eine Volldüngung erhalten hatten.

Für die Gründüngung nun wurden die Gefäße möglichst dann herangezogen, wenn die Pflanzen den Höhepunkt ihrer vegetativen Entwicklung erreicht hatten, also zur Blütezeit. Erde und Pflanzen wurden durch Absieben voneinander getrennt, die Böden einheitlich auf 40 % ihrer max. Wasserkapazität gebracht, das Pflanzenmaterial zerkleinert und den Böden beigemengt. Dabei war aber zu berücksichtigen, daß die in derartigen Gefäßversuchen erzeugten Pflanzenmassen vergleichsweise mehrfach größer sind als die auf einem entsprechenden Volumen des natürlichen Ackerbodens gebildeten. Um nicht von vornherein extreme Verhältnisse zu schaffen, wie sie in der Praxis niemals auftreten

können, wurde daher jeweils nur ein Viertel der erzeugten Sproß- und Wurzelmengen dem Boden wieder zugegeben.

Auch hier blieben die Böden nach der Gründüngung zunächst etwa zehn Tage stehen. Erst dann, also ungefähr in der Periode des stärksten Abbaus, erfolgte die Untersuchung von *Ophiobolus* in seinen beiden Entwicklungsphasen mit Hilfe der üblichen Methoden.

Ergebnisse: Aus Tabelle 4 (a—c) geht hervor, daß Gründüngung in fast allen Fällen eine Verminderung der Entwicklung des Pilzes zur Folge hat. Im allgemeinen war die hemmende Wirkung in der saprophytischen Phase stärker ausgeprägt als in der parasitischen. Übrigens war unter dem Mikroskop auf den Aufwuchsplatten, welche in die grüngedüngten Böden eingebracht worden waren, gegenüber den Kontrollen häufig ein stärkerer Besatz mit Fremdorganismen zu erkennen.

Die Getreidearten, welche relativ viel Grünmasse geliefert hatten, übten auch meistens eine starke Hemmwirkung aus.

Unklarer ist das Bild bei den Cruciferen. Während z. B. Senf in der saprophytischen Phase von allen Kulturen am besten abschneidet, tritt seine Wirkung in der parasitischen Phase nur wenig hervor. Bei Sommer-Raps ist es umgekehrt.

*Tabelle 4*

Einfluß von Gründüngung in Gefäßkulturen auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis*

| Gründüngung mit | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | a | | | | |
| Kontrolle | 7,8±0,54 | 100 | — | 8,6±0,63 | 100 | — |
| Gerste | 3,6±0,25 | 46 | sgt | 5,0±0,27 | 58 | sgt |
| Hafer | 3,2±0,24 | 41 | sgt | 7,4±0,74 | 86 | n |
| Senf | 2,5±0,21 | 32 | sgt | 7,9±0,57 | 92 | n |
| Ackerbohnen | 4,4±0,45 | 56 | sgt | 7,9±0,51 | 92 | n |
| Erbsen | 6,3±0,62 | 81 | n | 8,9±0,66 | 103 | n |
| | | b | | | | |
| Kontrolle | 3,5±0,34 | 100 | — | 8,8±0,63 | 100 | — |
| Mais | 1,7±0,11 | 49 | sgt | 6,6±0,55 | 75 | sw |
| Sommer-Raps | 4,1±0,60 | 117 | n | 5,8±0,32 | 66 | sgt |
| Wicken | 2,3±0,20 | 66 | gt | 5,0±0,32 | 57 | sgt |
| | | c | | | | |
| Kontrolle | 2,8±0,24 | 100 | — | 11,3±1,00 | 100 | — |
| Blaue Bitter-Lupinen | 2,8±0,21 | 100 | n | 11,7±1,74 | 104 | n |
| Gelbklee | 1,6±0,11 | 57 | sgt | 10,5±0,77 | 93 | n |
| Rotklee | 1,9±0,16 | 68 | gt | 8,9±0,58 | 79 | sw |

Bei den Leguminosen liefern besonders Wicken und Ackerbohnen gute Ergebnisse. Erbsen, welche nächst den Lupinen am wenigsten Pflanzenmasse gebildet hatten, schneiden dagegen schlechter ab. Der völlige Mißerfolg bei Lupinen für beide Entwicklungsphasen des Pilzes ist zweifellos auf deren mangelhafte Entwicklung zurückzuführen. Die Kleearten entsprechen in ihrer Wirkung offenbar den übrigen Leguminosen.

Im zweiten Versuchsjahr wurden diese Untersuchungen mit Gerste, Senf und Gelbklee noch einmal in ähnlicher Weise wiederholt, allerdings mit zwei Abänderungen: Erstens wurde hier nicht ein Viertel, sondern ein Drittel der in den Gefäßen erzeugten Pflanzenmassen in die Böden eingebracht, und zweitens wurde nicht der übliche *Ophiobolus*-Stamm O 12, sondern ausnahmsweise der Stamm Og 4 geprüft, um die Ergebnisse auf eine breitere Grundlage zu stellen. Es handelt sich dabei um eine selbst isolierte Einsporenkultur, die aus der Gemeinde Musberg, in der weiteren Umgebung Hohenheims, stammte. In Vorversuchen hatte sie sich dem Kieler Stamm O 12 gegenüber sowohl in ihrer saprophytischen als auch parasitischen Entwicklung als unterlegen erwiesen. Auch auf Biomalzagar zeigte sie ein etwas geringeres Wachstum.

Aus Tabelle 5 sind die Einwirkungen der Gründüngung auf die saprophytische Entwicklung von Og 4 zu ersehen (die Versuche in der parasitischen Phase waren leider infolge mangelnder Infektion nicht auswertbar). Es ergeben sich überraschend starke Hemmwirkungen, welche die im Vorjahr mit Stamm O 12 erhaltenen wesentlich übertreffen.

*Tabelle 5*

Einfluß von Gründüngung in Gefäßkulturen auf die saprophytische Entwicklung des *Ophiobolus*-Stammes Og 4

| Gründüngung mit | Saprophyt. Wachstum in mm | Relative Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|
| Kontrolle | 1,9±0,21 | 100 | — |
| Gerste | 0,4±0,06 | 21 | sgt |
| Senf | 0,3±0,03 | 16 | sgt |
| Gelbklee | 0,5±0,06 | 26 | sgt |

Wie schon erwähnt, wurde die Gründüngung im zweiten Versuchsjahr nicht nur in Gefäßen, sondern auch auf dem Felde durchgeführt. Zu diesem Zweck wurden die Pflanzen zum geeigneten Zeitpunkt abgemäht und sofort mit dem Spaten untergegraben. Die Kontrollparzellen wurden ebenfalls umgegraben. Drei Wochen später wurden dann Bodenproben entnommen, um *O. graminis*, Stamm O 12, in der üblichen Weise darin zu kultivieren (infolge großer Trockenheit hatte sich das Pflanzenmaterial in dieser Zeit nur wenig zersetzt).

Wie Tabelle 6 zeigt, bringt eine Gründüngung auch unter Feldbedingungen starke Hemmungen von *Ophiobolus* hervor, wenigstens bei saprophytischem Wachstum. Die schwächere Wirkung in der parasitischen Phase tritt hier besonders deutlich hervor.

*Tabelle 6*

Einfluß von Gründüngung auf dem Felde auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis*

| Gründüngung mit | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 6,9±0,52 | 100 | — | 16,6±0,82 | 100 | — |
| Gerste | 1,6±0,11 | 23 | sgt | 14,5±0,85 | 87 | n |
| Senf | 1,6±0,15 | 23 | sgt | 14,9±0,80 | 90 | n |
| Gelbklee | 2,6±0,20 | 38 | sgt | 16,9±0,62 | 102 | n |

Insgesamt sind die Ergebnisse bei Gründüngung wesentlich prägnanter und einheitlicher als bei dem im vorigen Abschnitt beschriebenen bloßen Zusatz von Pflanzenmaterial zum Boden. Dies hängt vielleicht damit zusammen, daß bei dem Verfahren der Gründüngung die Pflanzen schon vorher auf denselben Böden gewachsen waren und diese sicherlich auch mikrobiologisch in ganz bestimmter Richtung beeinflußt hatten. Zumal auch schon zu Lebzeiten der Pflanzen, wenn auch nur in beschränktem Umfange, Abbauvorgänge stattfinden (z. B. an abgestorbenen Wurzelhaaren, Epidermiszellen, abgefallenen Blättern usw.). Die abschließende Einbringung des Pflanzenmaterials traf daher wohl auf ausgeglichenere, für den Abbau günstigere mikrobiologische Voraussetzungen, als dies bei irgendeinem zufällig ausgewählten Boden der Fall ist.

### c) Vorfruchtwirkungen

Methodik: Für die Vorfruchtversuche des ersten Jahres wurden die Gefäßkulturen unmittelbar nach ihrer Aberntung herangezogen. Mit Ausnahme von Mais, Rot- und Gelbklee erfolgte die Aberntung der Pflanzen nach ihrer Ausreifung zum normalen Zeitpunkt. Die drei genannten Kulturen mußten aus versuchstechnischen Gründen vorzeitig abgeerntet werden, hatten aber trotzdem eine längere Vegetationsdauer als alle anderen Arten. Der Mais befand sich im Zustand der Gelbreife, Gelb- und Rotklee hatten zwar schon Samen gebildet, waren aber noch grün.

Die Böden mit den Wurzel- und Stoppelrückständen wurden gesiebt und einheitlich wieder auf 40 % ihrer maximalen Wasserkapazität gebracht. Wurzel- und Stoppelreste wurden zerkleinert und den Böden wieder beigemengt (aus denselben grundsätzlichen Erwägungen wie bei Gründüngung wiederum nur zu einem Viertel).

Die Wirkungen auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus* wurden dann in der gewohnten Weise untersucht.

*Tabelle 7*

Einwirkung verschiedener Vorfrüchte in Gefäßkulturen auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis*

| Vorfrucht | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | a | | | | |
| Kontrolle (Brache) | 7,8±0,64 | 100 | — | 18,5±1,05 | 100 | — |
| Gerste | 7,8±0,86 | 100 | n | 13,1±1,09 | 71 | sgt |
| Hafer | 6,9±0,78 | 88 | n | 29,4±2,77 | 159 | sgt |
| Senf | 7,3±0,68 | 94 | n | 20,6±1,66 | 111 | n |
| Erbsen | 10,1±0,65 | 129 | sw | 25,7±2,26 | 139 | gn |
| | | b | | | | |
| Kontrolle (Brache) | 6,5±0,67 | 100 | — | 11,1±0,82 | 100 | — |
| Sommer-Raps | 9,1±0,64 | 140 | gn | 11,4±0,92 | 103 | n |
| Ackerbohnen | 4,8±0,44 | 74 | sw | 12,6±1,10 | 114 | n |
| Wicken | 6,7±0,55 | 103 | n | 11,0±1,08 | 99 | n |
| | | c | | | | |
| Kontrolle (Brache) | 4,0±0,43 | 100 | — | 16,7±1,27 | 100 | — |
| Mais | 2,8±0,23 | 70 | gn | 12,3±1,25 | 74 | sw |
| Blaue Bitter-Lupinen | 3,1±0,29 | 78 | n | 15,9±1,41 | 95 | n |
| Gelbklee | 1,9±0,14 | 48 | sgt | 11,0±0,82 | 66 | sgt |
| Rotklee | 2,1±0,19 | 53 | sgt | 11,5±1,15 | 69 | gn |

Ergebnisse: Die Vorfruchtwirkungen sind, wie aus Tabelle 7 (a—c) hervorgeht, im Vergleich zu den Wirkungen bei Gründüngung viel weniger ausgeprägt. Teilweise scheint eher eine Förderung als eine Hemmung des Pilzes stattzufinden. Die bei Gerste für die parasitische Phase beobachtete Hemmung tritt für die saprophytische Entwicklung nicht hervor. Umgekehrt verhält es sich mit der ohnehin nur schwach gesicherten Hemmung bei Ackerbohnen in der saprophytischen Phase.

Variationsstatistisch einigermaßen gesicherte Hemmungseffekte bleiben schließlich nur für Mais und die beiden Kleearten übrig. Auffallenderweise handelt es sich also um diejenigen Kulturen, welche bei der Aberntung noch nicht ausgereift waren und außerdem die längste Vegetationsdauer hinter sich hatten.

Auch in den Gefäßkulturen des zweiten Versuchsjahres wurden die Vorfruchtwirkungen untersucht. Parallel zu den Gründüngungsversuchen wurde diesmal ein Drittel der Ernterückstände den Böden beigemengt; ferner wurde auch hier der *Ophiobolus*-Stamm Og 4 für die Untersuchungen herangezogen.

*Tabelle 8*

Einfluß verschiedener Vorfrüchte in Gefäßversuchen auf das saprophytische und parasitische Wachstum des *Ophiobolus*-Stammes Og 4

| Vorfrucht | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle (Brache) ..... | 6,2±0,47 | 100 | — | 19,9±1,23 | 100 | — |
| Gerste ..... | 1,7±0,11 | 27 | sgt | 15,5±1,36 | 78 | sw |
| Senf ..... | 4,3±0,46 | 69 | gn | 14,2±0,75 | 71 | sgt |
| Gelbklee ..... | 3,7±0,33 | 60 | sgt | 11,7±0,67 | 59 | sgt |

Die Ergebnisse zeigt Tabelle 8. Wiederum wirken sich die Vorfrüchte nicht so stark hemmend auf *O. graminis* aus wie die entsprechenden Gründüngungen (vgl. Tabelle 5). Andererseits sind die Hemmwirkungen deutlicher als bei den Vorfruchtversuchen des ersten Jahres mit Stamm O 12 (vgl. Tabelle 7), wo von Gerste, Senf und Gelbklee sich nur der letztere als eindeutig wirksam erwiesen hatte. Da bei den Gründüngungsversuchen im zweiten Versuchsjahr mit Stamm Og 4 ebenfalls gesteigerte Hemmwirkungen zu verzeichnen waren, entsteht der Eindruck, daß dieser Stamm auf irgendwelche hemmenden Einflüsse stärker reagiert als O 12.

In den Feldversuchen des zweiten Jahres wurden Gerste und Senf zum normalen Zeitpunkt abgeerntet, Gelbklee war noch grün. Unmittelbar nach der Aberntung wurden die Bodenproben zur Prüfung der Entwicklung von *Ophiobolus* (Stamm O 12) entnommen, wobei hier natürlich sämtliche Ernterückstände im Boden verblieben.

Wie Tabelle 9 zeigt, wirken auch in diesen Versuchen die Vorfrüchte weniger hemmend auf *O. graminis* als Gründüngung (vgl. Tabelle 6). Außerdem wird einmal mehr bestätigt, daß der Pilz in seiner saprophytischen Entwicklungsphase den antagonistischen Faktoren stärker preisgegeben ist als in seiner parasitischen.

*Tabelle 9*

Einfluß verschiedener Vorfrüchte im Feldversuch auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis*

| Vorfrucht | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle (Brache) ..... | 2,2±0,22 | 100 | — | 20,6±0,66 | 100 | — |
| Gerste ..... | 1,6±0,13 | 73 | sw | 22,2±1,26 | 108 | n |
| Senf ..... | 1,8±0,10 | 82 | n | 19,3±0,94 | 94 | n |
| Gelbklee ..... | 1,6±0,12 | 73 | sw | 20,9±0,98 | 101 | n |

Abschließend läßt sich sagen, daß sowohl in Gefäß- als auch in Feldkulturen die Früchte dann, wenn sie normal abgeerntet werden, wobei nur die üblichen Ernterückstände im Boden zurückbleiben, sich nicht oder nur schwach hemmend auf das Wachstum von *Ophiobolus* im Boden auswirken.

### 3. Besprechung der bisherigen Ergebnisse

Zur Beurteilung der Resultate ist es zweckmäßig, sich klar zu machen, daß die aktiven Einwirkungen der Fruchtfolgepflanzen auf den Boden und seine Bewohner sich grundsätzlich in zwei Abschnitten vollziehen. Zum ersten Abschnitt gehören alle die Einflüsse, welche die Pflanzen schon zu ihren Lebzeiten auf den Boden ausüben, zum zweiten Abschnitt jene Wirkungen, welche erst nach dem Tode, der in der landwirtschaftlichen Praxis im allgemeinen mit der Ernte bzw. einer Gründüngung zusammenfällt, eintreten. Der Kürze wegen soll der erste Abschnitt im folgenden als prämortale, der zweite als postmortale Einwirkung bezeichnet werden.

Für die prämortale Wirkung nun kommen zunächst irgendwelche Ausscheidungen der Pflanzen in Frage. Ferner können quantitative und qualitative Veränderungen der Mikroflora des Bodens schon zu Lebzeiten der Pflanzen verursacht werden, ausgehend besonders von den Rhizosphären und wohl ihrerseits durch Wurzelausscheidungen bedingt. Dagegen werden Abbauvorgänge in dieser Phase nur eine untergeordnete Rolle spielen und sich auf die Zersetzung von Wurzelhaaren, abgestoßenen Epidermiszellen, abgefallenen Blättern usw. beschränken.

Im Gegensatz dazu wird aber im postmortalen Wirkungsabschnitt den Abbauvorgängen eine beherrschende Bedeutung zukommen. Denn hier werden in Gestalt der Ernterückstände und ganz besonders durch eine Gründüngung dem Boden relativ große Mengen abbaufähigen organischen Pflanzenmaterials zur Verfügung gestellt. Einerseits können dabei in diesem Material vorhandene spezifische Stoffe plötzlich in größerer Menge im Boden zur Wirkung gelangen; andererseits werden durch die nun einsetzenden Verrottungsvorgänge wesentliche Veränderungen im Edaphon vor sich gehen, durch welche auch die nicht direkt am Abbau beteiligten Mikroorganismen erfaßt werden, wohl hauptsächlich in Form antibiotischer Effekte.

Betrachtet man nun unter diesen Gesichtspunkten die bisherigen Ergebnisse, so ergibt sich, daß eindeutige, einigermaßen zuverlässige Hemmwirkungen gegen *Ophiobolus* dann eintreten, wenn die Pflanzen sowohl prämortal auf den Boden einwirken als auch postmortal in größeren Mengen im Boden verrotten. Dies ist vor allem bei Gründüngung der Fall. Dagegen bringt der bloße Zusatz des Pflanzenmaterials zum Boden keinen durchschlagenden Erfolg. Bei diesem Verfahren konnten die Pflanzen prämortal den Boden nicht beeinflussen, die postmortalen Wirkungen des Abbaus waren also gewissermaßen für sich allein herausisoliert worden. Zwar überwiegen im ganzen die hemmenden Einflüsse etwas, aber im einzelnen sind die Ergebnisse doch sehr schwankend. Die möglichen Gründe für diese Erscheinung sind bereits in dem betreffenden Abschnitt erörtert worden.

Ebensowenig üben die Vorfrüchte unmittelbar nach ihrer Aberntung entscheidende Hemmwirkungen auf den Parasiten aus. Da die Stoppel- und Wurzelrückstände relativ gering sind, treten die postmortalen Auswirkungen der Zersetzung usw. zurück. Andererseits sind die prämortalen Einflüsse offenbar nicht stark und anhaltend genug, um sich in bezug auf *Ophiobolus* deutlich bemerkbar zu machen.

*Tabelle 10*

Einfluß von Böden aus Gefäßkulturen, die mit Gerste, Senf bzw. Gelbklee bis zum Höhepunkt der Vegetation bewachsen waren, auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis*, Stamm Og 4

| Angebaute Frucht | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle (Brache) ..... | 6,4±0,50 | 100 | — | 28,9±1,55 | 100 | — |
| Gerste ..... | 7,7±0,60 | 120 | n | 25,0±1,65 | 87 | n |
| Senf ..... | 6,5±0,76 | 102 | n | 24,3±1,38 | 84 | sw |
| Gelbklee ..... | 7,5±0,55 | 117 | n | 28,0±2,02 | 97 | n |

Daß es tatsächlich auf den Abbau größerer Mengen von Pflanzenmaterial im Boden ankommt, zeigt auch ein anderer Versuch. In den Gefäßkulturen des zweiten Versuchsjahres wurde bei der Durchführung der Gründüngung, also auf dem Höhepunkt der Vegetation, ein Teil der durch Absieben vom Pflanzenmaterial getrennten Böden entnommen und ohne Pflanzenzusatz unmittelbar auf seine Wirkung gegenüber *Ophiobolus*, Stamm Og 4, untersucht. Die postmortalen Abbauvorgänge waren also ausgeschaltet, und nur die Einwirkungen, welche die Pflanzen schon zu ihren Lebzeiten den Böden mitgeteilt hatten, konnten sich bemerkbar machen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 10. Es geht daraus hervor, daß prämortale Einwirkungen des Pflanzenwachstums auf die Entwicklung von *O. graminis* so gut wie nicht vorhanden sind. Und dies, obwohl solche Einwirkungen auf dem Höhepunkt der Vegetation hätten am stärksten sein müssen, obwohl in Gefäßkulturen der Boden besonders intensiv durchwurzelt wird, und obwohl sich der Stamm Og 4 in den anderen Versuchen als sehr empfindlich erweist. Besonders klar äußern sich die Verhältnisse bei einem Vergleich der Versuche Tabelle 5 und 10,

die ja mit denselben Böden durchgeführt wurden, nur mit dem einen Unterschied, daß im ersten Falle das Gründüngungsmaterial eingebracht wurde, im zweiten nicht.

Im übrigen zeigten die Versuche, daß Gründüngung und Vorfrüchte auf dem Feld sich gleichermaßen auswirken wie in Gefäßkulturen.

Die beiden untersuchten *Ophiobolus*-Stämme O 12 und Og 4 reagierten grundsätzlich in derselben Weise auf die hemmenden Einflüsse, wenn auch der letztere sich anscheinend als empfindlicher erwies. Dies hängt vielleicht mit seiner etwas geringeren Wuchsfreudigkeit und Pathogenität zusammen. Slagg und Fellows (1947) fanden z. B., daß die weniger pathogenen Stämme von *O. graminis* von den antagonistischen Einwirkungen anderer Bodenpilze stärker betroffen werden als die hochvirulenten.

Ferner ergab sich immer wieder, daß der Pilz in seiner saprophytischen Entwicklungsphase den hemmenden Faktoren stärker ausgesetzt ist als in seiner parasitischen. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß *Ophiobolus*, wenn er sich an der Wurzel der Wirtspflanze entwickelt, infolge der biologischen Pufferung der Rhizosphäre gegen Außeneinflüsse zwar nicht völlig, aber doch weitgehend geschützt ist. Zu ähnlichen Ergebnissen waren auch Winter (1950) sowie Stumbo und Mitarbeiter (1942) auf anderem Wege gekommen. Für die Praxis bedeutet dies, daß der Pilz durch Gründüngungsmaßnahmen und dergleichen vor allem dann zu bekämpfen sein wird, wenn er als Saprophyt im Boden vorhanden ist. Als Parasit dagegen, z. B. auch an den Wurzeln von anfälligen Unkrautgräsern, wie Quecke, ist er solchen Maßnahmen bis zu einem gewissen Grade entzogen.

Im übrigen dürfen die Ergebnisse dieser Versuche nur unter Einschränkungen auf die Verhältnisse im natürlichen Ackerboden übertragen werden. Zunächst sei noch einmal betont, daß sich die Untersuchungen lediglich mit dem pathogenen Pilz *Ophiobolus graminis* und nicht mit der Krankheit Schwarzbeinigkeit als solcher befassen. Aber auch in dieser Hinsicht besteht ein grundlegender Unterschied darin, daß der Pilz im natürlichen Ackerboden dem Einfluß der Pflanzenkultur in allen ihren Stadien und in jeder Beziehung unterworfen ist, während er bei der hier angewandten Versuchsmethodik immer erst n a c h Abschluß des Pflanzenwachstums in den Boden gelangt. Das bedeutet u. a., daß all jene Wirkungen, welche darauf beruhen, daß die Pflanzen dem Pilz rein passiv als Wirt dienen und damit seine Ausbreitung und Vermehrung ermöglichen, hier nicht erfaßt werden. So ist auch zu verstehen, daß z. B. die Gerste, die doch allgemein als ausgesprochen schlechte Vorfrucht in bezug auf die Ophiobolose anerkannt ist, sich in den bisherigen Versuchen keineswegs durch besonders ungünstige Resultate hervorhebt. Man darf daraus schließen, daß sie sich hinsichtlich der aktiven Einwirkungen auf den Boden und seine Bewohner, z. B. infolge Zersetzung des Pflanzenmaterials, auch nicht wesentlich anders verhält als die übrigen Kulturpflanzen, daß aber diese Wirkungen in der Praxis völlig überdeckt werden durch die Tatsache, daß Gerste selbst eine bevorzugte Wirtspflanze des Parasiten darstellt.

Möglicherweise können aber auch nichtanfällige Pflanzen den Pilz in ihrer Rhizosphäre anreichern, wenn er dort besonders zusagende Lebensbedingungen findet (vgl. WINTER 1949). Weiter darf nicht vergessen werden, daß durch die Kulturen auch bodenklimatische Faktoren wie Feuchtigkeit, Temperatur usw. beeinflußt werden, welche durch die Untersuchungen ebenfalls nicht erfaßt worden sind. Schließlich sei daran erinnert, daß unter praktischen Verhältnissen auch die Frage der Verunkrautung durch anfällige Gräser, z. B. Quecke, eine wesentliche Rolle spielt, worauf besonders BOCKMANN (1953) hinweist.

All diese methodisch bedingten Mängel müssen im Auge behalten werden, wenn nun versucht wird, aus den gewonnenen Ergebnissen einige Folgerungen für den praktischen Ackerbau zu ziehen.

Bei normalem Anbau der Kulturen bis zur Reife und nachfolgender Aberntung ist die Kernfrage zweifellos die, ob es sich um eine anfällige Frucht handelt oder nicht. Es gilt, den im Boden saprophytisch ausdauernden Pilz durch Fernhaltung seiner Wirtspflanzen „auszuhungern". Demgegenüber treten spezifische Unterschiede zwischen den nichtanfälligen Arten, falls solche überhaupt bestehen, in den Hintergrund. Die erhaltenen Resultate sprechen dafür, daß die einzelnen Früchte bei normalem Anbau keine hemmenden Einflüsse auf *Ophiobolus* ausüben, die über die Auswirkungen einer Brache wesentlich hinausgehen. Die gewöhnlich zurückbleibenden Ernterückstände reichen offenbar nicht aus, um Abbauvorgänge auszulösen, welche den Parasiten merklich schädigen. Andererseits erweisen sich die Einwirkungen, welche die Pflanzen schon zu Lebzeiten, also prämortal, dem Boden mitteilen, im Hinblick auf *Ophiobolus* stets als gering. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß es sich bei den geschilderten Untersuchungen durchweg um relativ kurzfristige Kulturen handelt. Es besteht die Möglichkeit, daß langfristige Kulturen sich hierin anders verhalten, da sie naturgemäß den Boden und seine Mikroflora stärker beeinflussen (vgl. STARKEY 1929 a, 1931; KRASSILNIKOW 1949).

Von durchschlagenderem Erfolg sind aber im allgemeinen die Auswirkungen einer Gründüngung. Die verhältnismäßig großen Mengen von Pflanzenmaterial, welche hierbei dem Boden zugeführt werden, verursachen in fast allen Fällen eine deutliche Hemmung des Parasiten. Ob in dieser Hinsicht sich einzelne Früchte durch besonders günstige Wirkungen vor anderen hervorheben, läßt sich vorderhand noch nicht entscheiden. Natürlich dürfen anfällige Getreidearten oder Gräser nicht verwendet werden. Im übrigen ist der wesentliche Gesichtspunkt wohl der, ob überhaupt eine Gründüngung durchgeführt wird oder nicht.

### D. Untersuchungen über die ursächlichen Zusammenhänge bei Gründüngungs- und Vorfruchtwirkungen

Die bisherigen Untersuchungen hatten gezeigt, daß *Ophiobolus graminis* im Boden den Einwirkungen der angebauten Früchte in wechselndem Maße ausgesetzt ist. Dabei mußte das Verhalten des Pilzes das Endergebnis irgend-

welcher kausaler Zusammenhänge darstellen, welche vom Wachstum der Pflanzen bzw. von der Einbringung des Pflanzenmaterials ihren Ausgang nahmen. Gelang es nun, tieferen Einblick in diese Zusammenhänge zu nehmen, so mußte dies zu einem besseren Verständnis der Endwirkungen und zu einer genaueren Erkenntnis dessen führen, was auf diesem Wege überhaupt erreicht werden kann.

Allerdings erschien es von vornherein aussichtslos, alle in Frage kommenden Vorgänge quantitativ und qualitativ so exakt zu erfassen, daß eine lückenlose Beweiskette hätte geschaffen werden können. Dazu ist einerseits das Geschehen im natürlichen Boden viel zu mannigfaltig, ungleichartig und kompliziert; andererseits sind die verfügbaren Methoden im Vergleich dazu einseitig, schematisch und grob. Es blieb deshalb nichts anderes übrig, als sich von verschiedenen Blickpunkten aus Teilansichten der einzelnen Vorgänge zu verschaffen und zu versuchen, diese Teilansichten nachher so gut wie möglich zu einem Gesamtbild zusammenzufügen. Mit anderen Worten: es handelte sich darum, Indizien zu sammeln. Zu diesem Zweck wurden vier Hypothesen gebildet, nach denen die Wirkungen von Gründüngung und Vorfrucht auf den Pilz möglicherweise zustandekommen konnten.

1. Durch die Wachstumseinflüsse der Pflanzen und besonders durch die Einbringung und Zersetzung organischen Materials konnte der pH-Grad des Bodens in einer Weise verändert werden, welche der Entwicklung von *Ophiobolus* abträglich war.
2. Durch den Entzug mineralischer Nährstoffe, besonders von Stickstoff, aus dem Boden konnten die Kulturpflanzen die Lebensbedingungen des Pilzes verschlechtern.
3. Durch die Ausscheidung toxischer Stoffe bzw. durch das Freiwerden solcher Stoffe aus den Ernterückständen oder durch Gründüngung konnte der Parasit direkt geschädigt werden.
4. Die Kulturpflanzen konnten, je nach Anbauzweck, die allgemeine Mikroflora des Bodens mehr oder weniger stark beeinflussen, was dann sekundär zu Auswirkungen auf *Ophiobolus* als Mitglied der Bodenbiocönose führte.

Im folgenden werden diese vier Möglichkeiten an Hand des bekannten Schrifttums und auf Grund eigener Versuche besprochen.

### 1. Die Beeinflussung des pH-Grades

Nach den Untersuchungen von Kirby (1922), Schaffnit und Meyer-Hermann (1930) u. a. liegt das pH-Optimum für *Ophiobolus graminis* im leicht alkalischen Bereich, doch geht aus Beobachtungen der genannten Autoren sowie auch von Moritz (1933), Glynne (1935), Brömmelhues (1935) usw. hervor, daß der Pilz andererseits eine weitgehende Verträglichkeit nach der sauren Seite hin besitzt. Er könnte daher nur durch einschneidende Veränderungen der Bodenazidität wesentlich beeinflußt werden. Die Frage ist nun, ob durch Pflanzenwuchs bzw. Gründüngung solche Reaktionsverschiebungen hervorgebracht werden.

Um hierüber Klarheit zu erlangen, wurden zunächst in den Gefäßkulturen des ersten Versuchsjahres die pH-Werte der Böden unmittelbar nach der normalen Aberntung der einzelnen Früchte bestimmt.

Methodik: Aufschwemmung der in der allgemein üblichen Weise vorbereiteten Proben in destilliertem Wasser und Messung mit Hilfe einer Glaselektrode.

Ergebnisse: Aus Tabelle 11 geht hervor, daß die verschiedenen Vorfrüchte keinen erheblichen Einfluß auf den Säuregrad des Bodens haben. Die Verschiebungen betragen höchstens 0,2 bis 0,3 pH-Grade und gehen zudem, im Vergleich zu Brache, fast sämtlich nach der alkalischen Seite hin.

*Tabelle 11*

pH-Werte aus einem Gefäßversuch unmittelbar nach Aberntung verschiedener Früchte im Vergleich zu den jeweils zugehörigen Kontrollen (Brachen)

| Vorfrucht | pH | Vorfrucht | pH | Vorfrucht | pH |
|---|---|---|---|---|---|
| 1. Kontrolle (Brache) | 7,90 | 2. Kontrolle (Brache) | 7,96 | 3. Kontrolle (Brache) | 7,83 |
| Gerste | 8,22 | Sommer-Raps | 8,19 | Mais | 8,04 |
| Hafer | 8,21 | Ackerbohnen | 7,94 | Blaue Bitter-Lupinen | 7,88 |
| Senf | 8,20 | Wicken | 8,06 | Gelbklee | 8,04 |
| Erbsen | 7,96 | | | Rotklee | 8,02 |

Auch in den Gefäßkulturen des zweiten Versuchsjahres wurden die pH-Werte bestimmt. Diesmal nicht nur nach der Ernte der einzelnen Früchte, sondern auch nach Gründüngung, und zwar etwa zehn Tage nach Durchführung derselben unter Belassung des eingebrachten Pflanzenmaterials im Boden. Zu erwähnen ist noch, daß die pH-Zahl des in den Gefäßkulturen verwendeten Lehm-Sand-Gemisches beim Ansatz der Kulturen (also im Frühjahr) 7,79 betragen hatte.

Tabelle 12 gibt die Ergebnisse der Messungen des zweiten Versuchsjahres wieder. Die Einflüsse der Vorfrüchte nach Aberntung decken sich nach Ausmaß und Richtung ungefähr mit denen des Vorjahres. Die Auswirkungen von Gründüngung auf die Bodenazidität sind ebenfalls gering. Sie gehen zwar eher nach der sauren Seite hin, bleiben aber im für *Ophiobolus* angeblich optimalen alkalischen Bereich.

*Tabelle 12*

Einfluß von Gründüngung und Vorfrucht auf den Säuregrad eines Versuchsbodens

| Angebaute Frucht | pH-Grad nach | |
|---|---|---|
| | Gründüngung | Aberntung |
| Kontrolle (Brache) | 7,82 | 7,69 |
| Gerste | 7,83 | 7,89 |
| Senf | 7,72 | 8,02 |
| Gelbklee | 7,63 | 7,79 |

Die erhaltenen Resultate stimmen mit den Angaben aus der Literatur weitgehend überein. So fanden z. B. auch McKINLEY (1931), SMITH und HUMFELD (1930) sowie HILDEBRANDT und WEST (1941) keine entscheidenden

Veränderungen der Bodenreaktion durch Pflanzenwachstum bzw. Gründüngung.

Zusammenfassend kann daher gesagt werden, daß die Einwirkungen auf den pH-Grad des Bodens gering sind und, vor allem angesichts des weiten pH-Bereichs von *Ophiobolus*, keinesfalls ausreichen, um eine merkliche Schädigung des Parasiten hervorzurufen.

### 2. Der Einfluß anorganischer Nährstoffe

Manche Autoren messen der Mineraldüngung keine Bedeutung hinsichtlich der Schwarzbeinigkeit bei, während andere von günstigen Auswirkungen mineralischer Düngergaben verschiedener Art und in verschiedenen Kombinationen berichten. Doch dürfte es sich in all diesen Fällen nicht um eine Schädigung des Erregers, sondern vielmehr um eine Förderung der Wirtspflanze in bezug auf Resistenz und Regenerationsvermögen (Bildung neuer Kronwurzeln) handeln.

Dagegen stellt GARRETT (1943) fest, daß *Ophiobolus* von infizierten Weizenstrohstückchen im Boden unter Hafer, Senf und Klee schneller verschwindet als unter Brache. Er schreibt dies auf Grund früherer Versuche dem Umstand zu, daß die genannten Pflanzen durch Stickstoffentzug mit dem Pilz in Wettbewerb treten. Danach würde die Verfügbarkeit von Stickstoff im Boden auch für den Parasiten selbst eine Rolle spielen. Mit dieser Theorie lassen sich allerdings die Ergebnisse von FELLOWS (1936) schwer vereinbaren, wonach anorganische Stickstoffquellen von *Ophiobolus* überhaupt nicht ausgewertet werden können. Und nur hinsichtlich des anorganischen Stickstoffs könnten ja die Pflanzen unmittelbar mit dem Pilz im Boden konkurrieren.

Eigene Versuche sollten nun zeigen, ob und in welchem Sinne die Einflüsse mineralischer Nährstoffe auch nach den selbst immer wieder benützten Methoden zum Ausdruck kamen.

Methodik: Die Versuche wurden parallel einmal in reinem Sand, zum andern in dem für die Gefäßkulturen usw. stets verwendeten Lehm-Sand-Gemisch 1 : 1 ausgeführt. Beide Substrate wurden jeweils auf 40 % ihrer maximalen Wasserkapazität gebracht. In jedem Falle wurden dann vier Versuchsglieder gebildet: 1. Kontrolle, ganz ohne Nährstoffzusatz; 2. mit Phosphat- und Kaligabe; 3. mit Ammonnitrat, und 4. mit allen drei Düngemitteln (Volldüngung). Nach Art und Menge entsprachen die Gaben genau denen, die auch in den Gefäßkulturen angewandt worden waren; auf 6 kg Sand bzw. Boden kamen also je nach Versuchsplan: 5,15 g Ammonnitrat, 10,0 g Thomasphosphat und 4,17 g Kalisulfat. Die Parallelität zu den Gefäßkulturen wurde deshalb gewahrt, weil ja gerade auch in diesen die Gründüngungs- und Vorfruchtwirkungen zu beobachten waren. Es ist aber zu berücksichtigen, daß es sich hier um Düngemittel, nicht um reine Nährstoffe handelt (z. B. enthält Thomasphosphat neben $P_2O_5$ auch CaO und Spurenstoffe).

Prüfung der saprophytischen und parasitischen Entwicklung von *Ophiobolus* dann wie üblich.

Ergebnisse: Sind für den reinen Sand und für das Lehm-Sand-Gemisch in den Tabellen 13 bzw. 14 dargestellt. Besonders auffallend sind die starken Hemmwirkungen, welche die einseitige Phosphat + Kali-Gabe auf die saprophytische Entwicklung des Pilzes in beiden Medien auslöst. In

*Tabelle 13*

Einfluß anorganischer Düngung auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in reinem Sand

| Düngung | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 8,7±0,67 | 100 | — | 31,0±0,98 | 100 | — |
| Thomasphosphat + $K_2SO_4$ | 3,2±0,17 | 37 | sgt | 43,0±0,56 | 139 | sgt |
| $NH_4NO_3$ | 7,6±0,56 | 87 | n | 28,1±1,13 | 91 | n |
| Volldüngung | 8,8±0,44 | 101 | n | nicht auswertbar | | |

beiden Fällen treten sie in der parasitischen Phase nicht so hervor (in Sand werden sie sogar in ihr Gegenteil verkehrt). Ferner werden sie durch die zusätzliche $NH_4NO_3$-Gabe im Rahmen der Volldüngung, zumindest in Sand, aufgehoben. Es ist deshalb denkbar, daß diese Wirkungen durch eine Störung des Ionen-Gleichgewichts infolge der unharmonischen Phosphat + Kali-Düngung zustandekommen. Das Gleichgewicht würde dann in einem Falle durch die Nährstoffaufnahme usw. im Wurzelbereich der Weizenpflanzen, im anderen Fall durch die zusätzliche Ammonnitrat-Gabe wiederhergestellt werden.

*Tabelle 14*

Einfluß anorganischer Düngung auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in einem Lehm-Sand-Gemisch

| Düngung | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 10,0±0,61 | 100 | — | 39,2±1,15 | 100 | — |
| Thomasphosphat + $K_2SO_4$ | 1,5±0,11 | 15 | sgt | 35,2±1,63 | 90 | sw |
| $NH_4NO_3$ | 4,4±0,20 | 44 | sgt | 28,7±1,00 | 73 | sgt |
| Volldüngung | 3,6±0,23 | 36 | sgt | 30,2±1,15 | 77 | sgt |

Anders sind anscheinend die Einwirkungen des Stickstoffs zu beurteilen. Dieser hat in Sand sowohl für sich allein als auch im Rahmen der Volldüngung keinen erheblichen Einfluß. Dagegen sind in dem Lehm-Sand-Gemisch bei $NH_4NO_3$-Anwendung stets deutliche Hemmwirkungen zu beobachten. Diese sind bei alleiniger $NH_4NO_3$-Gabe ungefähr genau so hoch wie bei Volldüngung. Der Gegensatz zu den Verhältnissen in reinem Sand legt die Vermutung nahe, daß es sich nicht um direkte Wirkungen auf den Pilz handelt. Vielmehr dürfte der Stickstoff in dem Lehm-Sand-Gemisch Veränderungen der allgemeinen Mikroflora hervorbringen, welche dann sekundär eine Hemmung von *Ophiobolus* verursachen. In dem sehr keimarmen Sand dagegen spielen solche Veränderungen praktisch keine Rolle.

Auf jeden Fall lassen sich die Ergebnisse dahin zusammenfassen, daß die Einflüsse anorganischer Nährstoffe auf den Parasiten, sofern solche über-

haupt bestehen, nicht fördernder, sondern, von einer Ausnahme abgesehen, hemmender Natur sind. Dies bedeutet aber, daß sie für die Erklärung der hemmenden Einwirkungen von Gründüngung bzw. Vorfrucht nicht in Frage kommen können. Man müßte dann nämlich annehmen, daß die Verfügbarkeit von Nährstoffen nach Gründüngung bzw. unmittelbar nach Aberntung größer ist als unter Brache. Dies ist aber völlig unwahrscheinlich, selbst in den Fällen, wo die brach gehaltenen Kontrollen keine Düngung erhalten hatten.

Für die Richtigkeit dieser Darstellungen spricht noch ein weiterer Umstand. In den Gefäßkulturen erhielten die Kontrollen, wie erwähnt, keine Düngung. Dagegen wurden auf dem Felde die Brache-Parzellen genau so gedüngt wie die später mit Gerste, Senf und Gelbklee bebauten. Trotzdem hatten Gründüngung und Vorfrucht auf dem Felde grundsätzlich denselben Einfluß auf *Ophiobolus* wie in den Gefäßen. Wäre aber dabei der Gehalt der Böden an mineralischen Nährstoffen ausschlaggebend gewesen, so hätte sich die gegensätzliche Düngungsweise entsprechend bemerkbar machen müssen.

### 3. Die direkten stofflichen Einwirkungen der Fruchtfolgepflanzen auf den Pilz

Diesem Punkt war schon deshalb eine erhöhte Aufmerksamkeit zu schenken, weil er bis jetzt im Schrifttum über die Fruchtfolgeeinwirkungen auf *Ophiobolus* bzw. auf die Schwarzbeinigkeit so gut wie gar nicht erörtert wurde. Andererseits haben die Forschungen über die gegenseitigen stofflichen Einflüsse der Mikroorganismen untereinander in den letzten Jahren einen beträchtlichen Umfang angenommen. Zahlreiche sogenannte Antibiotika sind dabei entdeckt und vorwiegend medizinisch ausgewertet worden. Es lag daher nahe, zu untersuchen, ob Hemmstoffe, welche von den höheren Pflanzen ausgehen, nicht für die „Heilung des Bodens von Schwarzbeinigkeit" eine ähnliche Rolle spielen können.

Daß tatsächlich in den höheren Pflanzen Hemmstoffe irgendwelcher Art vorkommen können, ist in zahlreichen Untersuchungen nachgewiesen worden. Diese wirken zum Teil gegen andere höhere Pflanzen, zum Teil auch gegen Mikroorganismen. Unter letzteren überwiegen nach Köhler (1950) bakterizide Substanzen, doch kommen auch fungizide vor.

In diesem Zusammenhang war auch an eine Gruppe sehr spezifischer Pflanzenstoffe zu denken, nämlich an die Senföle. Diese werden vor allem in der Familie der Cruciferen gebildet, der als landwirtschaftliche Nutzpflanzen hauptsächlich Senf, Raps, Rübsen und Kohlgewächse angehören. Da andererseits z. B. gerade der Raps als gute Vorfrucht zur Vermeidung von Weizenfußkrankheiten bekannt ist, erschien es nicht ausgeschlossen, daß die Senfölwirkung hieran wesentlich beteiligt ist. Es wurden deshalb zunächst Versuche mit einem Senföl in chemisch reiner Form durchgeführt.

#### a) Versuche mit Senföl

Methodik: Verwendet wurde das synthetische Allylsenföl der Firma E. Merck, Darmstadt. Da nach Gäumann (1946) das Allylsenföl das giftigste ist, ist nicht anzunehmen, daß andere Senföle stärkere Wirkungen ausgeübt hätten. Wiederum wurden die

Versuche parallel in Sand und in dem üblichen Lehm-Sand-Gemisch angesetzt. In beiden Fällen vier Versuchsglieder: 1. Kontrolle, ohne Senföl; 2. $10^{-4}$ %; 3. $10^{-3}$ % und 4. $10^{-2}$ % Senfölzusatz (Gewichtsprozente, bezogen auf den Sand bzw. Boden). Die erforderlichen Senfölmengen wurden durch längeres Schütteln in jeweils 100 $cm^3$ Wasser fein emulgiert und in dieser Form in den Sand bzw. Boden gründlich eingemischt. Beide Medien dann auf 40 % ihrer maximalen Wasserkapazität eingestellt und mit den üblichen Methoden weiter untersucht.

Ergebnisse: Die Tabellen 15 und 16 zeigen, daß die Wirkung des Senföls auf den Pilz in Sand sich von der in dem Lehm-Sand-Gemisch nicht wesentlich unterscheidet. Wie bei der allgemeinen Giftigkeit des Senföls (vgl. z. B. HÄRDTL 1951) nicht anders zu erwarten, wird bei entsprechenden Konzentrationen auch *Ophiobolus* gehemmt bzw. ganz unterdrückt. Jedoch hat die schwächste angewandte Menge ($10^{-4}$ %) keine schädigende Wirkung; bei saprophytischer Entwicklung des Pilzes entsteht sogar eher der Eindruck einer leichten Stimulation, doch liegen sämtliche Ergebnisse im Zufallsbereich. Bei der mittleren Konzentration treten mehr oder weniger starke Hemmwirkungen auf. Schließlich verhindern $10^{-2}$ % das Wachstum von *Ophiobolus* vollständig, wobei allerdings die Resultate in der parasitischen Phase nicht auswertbar sind, da bei dieser Konzentration auch kein Weizen mehr aufläuft.

*Tabelle 15*

Einfluß verschiedener Konzentrationen von Allylsenföl auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in Sand

| Senföl-konzentration | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 6,1±0,58 | 100 | — | 41,9±1,24 | 100 | — |
| $10^{-4}$ % | 6,7±0,62 | 110 | n | 40,4±0,92 | 96 | n |
| $10^{-3}$ % | 3,4±0,31 | 56 | sgt | 7,4±0,70 | 18 | sgt |
| $10^{-2}$ % | 0 | 0 | sgt | nicht auswertbar | | |

*Tabelle 16*

Einfluß verschiedener Konzentrationen von Allylsenföl auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in einem Lehm-Sand-Gemisch

| Senföl-konzentration | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 3,2±0,37 | 100 | — | 27,3±1,20 | 100 | — |
| $10^{-4}$ % | 3,9±0,52 | 122 | n | 25,0±1,18 | 92 | n |
| $10^{-3}$ % | 1,1±0,06 | 34 | sgt | 15,1±1,04 | 55 | sgt |
| $10^{-2}$ % | 0 | 0 | sgt | nicht auswertbar | | |

Wichtig ist aber nun vor allem die Frage, inwieweit solche hemmenden Konzentrationen im Boden durch Gründüngung oder durch den Anbau bestimmter Früchte erreichbar sind. Nach verschiedenen Angaben von WEHMER

(1911) und Czapek (1921) beträgt der Gehalt des frischen Pflanzenmaterials an Senföl, soweit solches enthalten ist, etwa $3—5 \cdot 10^{-2}$ %. Bei einem Zusatz von 1 % frischen Pflanzenmaterials zum Boden (was, wie schon einmal ausgeführt, einer Gründüngung von etwa 300 dz/ha entspricht) könnten damit dem Boden höchstens ungefähr $3—5 \cdot 10^{-4}$ % Senföl zugeführt werden. Diese Menge liegt zwischen der schwächsten und mittleren Konzentration der vorhin beschriebenen Versuche, jedoch näher bei der schwachen, die ja keine wesentliche Wirkung mehr auf *Ophiobolus* ausgeübt hatte. Dürfte schon auf Grund dieser Berechnungen dem Senföl bei Gründüngung keine entscheidende Bedeutung zukommen, so verstärken weitere Überlegungen diesen Eindruck noch mehr. Zunächst wurden die Untersuchungen mit dem besonders toxischen Allyl-Senföl durchgeführt, während es sich in der Praxis, wenigstens zum Teil, um schwächere Senföle handeln wird. Ferner wird die errechnete Senfölmenge — da das Senföl in den Pflanzen in glykosidischer Bindung enthalten ist und erst beim Zusammentreffen des Glykosids mit dem spezifischen Enzym Myrosin in Freiheit gesetzt wird — z. B. bei einer Gründüngung erst nach und nach gebildet werden, sofern Glykosid oder Enzym nicht überhaupt schon vor dem Zustandekommen der Reaktion zerstört werden. Es wird also im Ackerboden wohl immer nur ein Bruchteil der errechneten Höchstkonzentration vorhanden sein, zumal wenn man die Flüchtigkeit des Senföls berücksichtigt (dagegen waren die Versuche Tabelle 15 und 16 durchweg in bedeckten Gefäßen durchgeführt worden).

Soviel zur Gründüngung. Wie steht es nun bei normaler Aberntung? Da die Ernterückstände mengenmäßig viel geringer sind als eine Gründüngung, können sie noch weniger zu schädigenden Senfölkonzentrationen im Boden führen. Und daß die Pflanzen bereits während ihres Wachstums nennenswerte Mengen von Senföl ausscheiden, ist schon deshalb unwahrscheinlich, weil sie es ja gar nicht in freier Form enthalten. Dies geht auch daraus hervor, daß nach Müller-Kögler (1938) die primäre Wurzelrinde aller von ihm untersuchten Cruciferen (darunter Raps, Rübsen und Senf) bei Infektionsversuchen in sterilisiertem Boden von *O. graminis* befallen und durchsetzt wird. Wenn aber die Senfölwirkung nicht ausreicht, um das Pflanzengewebe selbst gegen Befall zu schützen, wird sie außerhalb desselben im Boden erst recht nicht von Bedeutung sein.

Alles in allem können die Senföle wohl nicht zur Erklärung hemmender Einflüsse von Gründüngung bzw. Vorfrucht auf *Ophiobolus* herangezogen werden. Doch bleibt die Möglichkeit, daß Hemmstoffe anderer Art in den Pflanzen enthalten sind.

b) Die Wirkungen wässeriger Extrakte in Sand

Bereits in Abschnitt C 1 b war auf die Bedeutung der Versuche mit wässerigen Pflanzenextrakten hingewiesen worden. Dort waren solche Versuche in einer künstlichen Nährlösung durchgeführt worden, wobei jedoch nur Gelbklee hemmende Einflüsse auf *Ophiobolus graminis* geäußert hatte.

Zweifellos sind aber die Wachstumsbedingungen für den Pilz in einer Nährlösung wesentlich andere als im Boden. Um den natürlichen Verhält-

nissen näher zu kommen, wurde daher die Wirkung der Extrakte nunmehr in Sand untersucht. Der Sand wurde hauptsächlich aus zwei Gründen als Versuchsmedium gewählt: Erstens mußten infolge seiner geringen Adsorptionsfähigkeit stoffliche Einwirkungen in ihm besonders deutlich hervortreten, und zweitens ist er praktisch keimfrei, so daß die in diesen Versuchen grundsätzlich unerwünschte Interferenz der Mikroflora nahezu ausgeschaltet wird.

Methodik: Die Untersuchungen wurden mit Gerste, Senf, Gelb- und Rotklee durchgeführt. Herstellung der Extrakte wie in Abschnitt C 1 b. Dosierung so, daß die einer Gründüngung entsprechenden Pflanzenmengen extrahiert und nur die Extrakte dann in die als Bezugsbasis dienende Menge Sandes eingemischt wurden. Kontrollen ohne Extraktzusatz. 40 % der maximalen Wasserkapazität. Prüfung der saprophytischen bzw. parasitischen Entwicklung von *O. graminis* dann wieder in der üblichen Weise.

*Tabelle 17*

Einfluß verschiedener wässeriger Pflanzenextrakte auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in Sand

| Extraktzusatz von | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 2,6±0,21 | 100 | — | 15,6±0,52 | 100 | — |
| Gerste | 2,8±0,28 | 108 | n | 18,2±0,60 | 117 | gt |
| Senf | 2,6±0,23 | 100 | n | 16,2±0,60 | 104 | n |
| Gelbklee | 4,5±0,49 | 173 | sgt | 18,6±0,76 | 119 | gt |
| Rotklee | 2,7±0,26 | 104 | n | 17,9±0,71 | 115 | sw |

Ergebnisse: Ein Blick auf die Tabelle 17 zeigt sofort, daß das Wachstum von *Ophiobolus* in Sand niemals gehemmt, sondern stets gefördert wird. Für Gerste, Senf und Rotklee überrascht dieses Resultat keineswegs, da sie sich in künstlichen Nährlösungen ähnlich verhalten hatten. Um so erstaunlicher ist es, daß ausgerechnet Gelbklee, der doch damals entschiedene Hemmwirkungen ausgelöst hatte, den Pilz diesmal sogar besonders günstig beeinflussen soll. Doch konnte das gegensätzliche Verhalten des Gelbklee-Extraktes in den beiden verschiedenen Medien auch in Wiederholungsversuchen durchaus bestätigt werden. Außerdem findet es eine Parallele in den nunmehr zu besprechenden Untersuchungen über die Wurzelausscheidungen der Pflanzen.

### c) Untersuchung von Wurzelausscheidungen

Eventuell von den Pflanzen gebildete Hemmstoffe können nur dann im Boden wirksam werden, wenn sie entweder mit den Ernterückständen bzw. durch eine Gründüngung in den Boden gelangen oder aber schon von den lebenden Pflanzen ausgeschieden werden. In letzterem Falle interessieren besonders die Wurzelausscheidungen, und zwar vor allem diejenigen, welche sich infolge ihrer Wasserlöslichkeit oder ihrer Flüchtigkeit allgemein im Boden verbreiten können.

Bei einem Studium des einschlägigen Schrifttums ergibt sich, daß von den Pflanzenwurzeln neben Kohlendioxyd und anderen anorganischen Stoffen vor allem auch organische Säuren, Zucker, Schleime, teilweise auch Aminosäuren, Wuchsstoffe und dergleichen ausgeschieden werden. Danach dürfte die Einwirkung der Wurzelausscheidungen auf Mikroorganismen eine überwiegend günstige sein. Doch sind nach verschiedenen Angaben von STOKLASA und ERNEST (1909), KOSTYTSCHEW (1926) und FREY-WYSSLING (1935) auch schädigende Einflüsse nicht ausgeschlossen.

In den eigenen Versuchen wurden nun zunächst die Wurzelausscheidungen junger Gersten-, Senf- und Gelbkleepflanzen bei steriler Aufzucht auf einem Agarmedium in ihrer Wirkung auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis* geprüft.

Methodik: Die Pflanzen wurden zunächst mehrere Tage (Gerste neun Tage, Senf und Gelbklee je 19 Tage) in einem Schrägagarröhrchen (0,25 % Biomalz; 1,0 % Agar; Leitungswasser; pH = 6) unter sterilen Bedingungen vorgezogen. Dann wurden die Röhrchen im Wurzelbereich der Pflanzen mit den üblichen myzelbewachsenen Agarscheibchen beimpft und in einem belichteten Thermostaten bei 26° C aufgestellt. Die Kontrollen erhielten keine „Einsaat", wurden aber sonst gleich behandelt. Nach jeweils fünftägiger Bebrütung wurde abschließend gemessen, wie weit sich der Pilz vom Impfstück aus auf der Agarschrägfläche nach unten, also gleichsinnig mit den Wurzeln, ausgebreitet hatte. Vier- bis sechsfache Wiederholung.

Ergebnisse: Nach Tabelle 18 wirken sich die Wurzelausscheidungen auf Agar ganz ähnlich auf den Pilz aus wie die wässerigen Extrakte aus den Pflanzen in einer künstlichen Nährlösung. Auch hier äußern Gerste und Senf deutlich fördernde Einflüsse, während die Ausscheidungen des Gelbklees erneut zu einer gewissen Hemmung führen.

*Tabelle 18*

Einfluß der Wurzelausscheidungen junger, auf einem Agarmedium steril gezogener Gersten-, Senf- und Gelbkleepflanzen auf das Wachstum von *Ophiobolus graminis*

| Wurzelausscheidungen von | Ausbreitung des Myzels in mm | Relative Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|
| | a | | |
| Kontrolle | 9,0±0,93 | 100 | — |
| Gerste | 14,3±1,01 | 159 | gn |
| | b | | |
| Kontrolle | 22,0±1,12 | 100 | — |
| Senf | 28,7±0,43 | 130 | sgt |
| Gelbklee | 16,5±0,36 | 75 | gt |

Jedoch waren auch diesmal die grundlegenden Untersuchungen mit einem sterilen, künstlichen Medium durch solche Versuche zu erweitern, die den natürlichen Verhältnissen im Boden mehr Rechnung tragen. Aus den schon im vorigen Abschnitt erörterten Gründen wurde für diese Versuche wiederum Sand benützt.

Methodik: Zwecks Prüfung der Wurzelausscheidungen in Sand wurden die sonst verwendeten Methoden zur Bestimmung der saprophytischen bzw. parasitischen Entwicklung von *Ophiobolus* etwas abgewandelt.

Im Falle des saprophytischen Wachstums wurden die Versuche diesmal nicht in Petri-, sondern in Neubauerschalen durchgeführt. In diesen wurde auf die üblicherweise beimpften Objektträger eine etwa 3 cm hohe Schicht Sand gebracht, der mit VAN DER CRONE'scher Nährlösung auf 50 % seiner maximalen Wasserkapazität angefeuchtet war. Dann sofort Einsaat von Gerste, Senf bzw. Gelbklee als „Deckfrüchte". Kontrollen ohne Einsaat. Schalen mit Glasscheiben abgedeckt. Nach zwei bis drei Tagen hatten die Wurzelspitzen den Boden der Gefäße und damit die dort befindlichen Objektträger erreicht, die dann weitere 16 Tage unter dem unmittelbaren Einfluß der Wurzeln und ihrer Ausscheidungen standen. Danach Auswertung des Versuchs wie gewöhnlich.

Für die Bestimmung des parasitischen Wachstums wurden die verschiedenen „Deckfrüchte" zunächst 31 Tage lang für sich in Eindünstgläsern auf dem oben beschriebenen Sand kultiviert. Kontrollen wieder ohne Einsaat. Ausgleich der Verdunstungsverluste mit destilliertem Wasser. Dann wurden zwischen die Deckpflanzen in der gewohnten Weise vorgequollene Weizenkörner über Agarscheibchen eingesät. Alles weitere wie üblich.

*Tabelle 19*

Einfluß der Wurzelausscheidungen von Gerste, Senf und Gelbklee auf die saprophytische und parasitische Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in Sand

| Wurzelausscheidungen von | Saprophyt. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Parasit. Wachstum in mm | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Kontrolle | 2,1±0,15 | 100 | — | 35,0±1,53 | 100 | — |
| Gerste | 3,9±0,39 | 186 | sgt | 36,3±1,22 | 104 | n |
| Senf | 2,7±0,26 | 129 | sw | 34,5±1,28 | 99 | n |
| Gelbklee | 3,7±0,27 | 176 | sgt | 32,2±2,32 | 92 | n |

Ergebnisse: Während nach Tabelle 19 die Einflüsse der Wurzelausscheidungen auf *Ophiobolus* bei parasitischer Entwicklung indifferent sind, wird das saprophytische Wachstum des Pilzes durchweg gefördert. Bei Gerste und Senf entspricht dies den Erwartungen.

Bei Gelbklee ergibt sich, wie schon früher angedeutet, eine vollkommene Parallele zwischen der Wirkung wässeriger Extrakte aus den Pflanzen und der von Wurzelausscheidungen: in beiden Fällen auf künstlichen Nährböden Hemmungen, in Sand dagegen besonders starke Förderungen. Dieser Gegensatz scheint mit prinzipiellen Verschiedenheiten des Stoffwechsels in den beiden verschiedenartigen Medien zusammenzuhängen. Da jedoch die Entwicklungsbedingungen in Sand denen des natürlichen Bodens viel näher kommen, darf man annehmen, daß *Ophiobolus* auch dort durch die vom Gelbklee gebildeten Stoffe eher gefördert als gehemmt wird. Ein endgültiges Urteil wäre allerdings erst bei einer näheren Kenntnis des Wirkungsmechanismus' dieser Stoffe möglich.

Überhaupt muß zugegeben werden, daß die unmittelbaren, stofflichen Wirkungsmöglichkeiten der verschiedenen Fruchtfolgepflanzen mit den angewandten Methoden nicht erschöpfend erfaßt werden konnten. Tatsache bleibt

aber, daß wenigstens die erfaßten Einflüsse eher auf eine Begünstigung als auf eine Schädigung des Parasiten hinauslaufen.

Zum Schluß dieses Abschnitts soll noch ein Versuch beschrieben werden, der geeignet erscheint, einen Hinweis auf die wahren Zusammenhänge zu geben, auch wenn ihm eine unbedingte Beweiskraft nicht zukommt.

Methodik: In Abschnitt C 1b dieser Arbeit waren wässerige Extrakte aus frischem Pflanzenmaterial gewonnen und auf ihre Wirkung gegen *Ophiobolus* in einer Nährlösung untersucht worden. Dabei hatten u. a. Gerste und Senf zu Förderungen, Gelbklee dagegen als einzige Frucht zu einer Hemmung des Wachstums geführt. Nunmehr sollte geprüft werden, wie sich ein Abbau der Pflanzenstoffe in diesen Versuchen auswirkt. Zu diesem Zweck wurde das zerkleinerte und zerriebene Material zuerst neun Tage lang im Thermostat bei 21 bis 22° C aufgestellt, bis die Zersetzung gut in Gang gekommen war. Dann erst wurden die Extrakte von den festen Bestandteilen abgetrennt und in der früheren Weise weiter untersucht.

*Tabelle 20*

Einfluß wässeriger Extrakte aus teilweise zersetztem Pflanzenmaterial auf die Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in einer Nährlösung

| Extraktzusatz von | Myzelgewicht in mg | Relative Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|
| Kontrolle | 470±38,4 | 100 | |
| Gerste | 46± 8,0 | 10 | sgt |
| Senf | 177±29,6 | 38 | sgt |
| Gelbklee | 13± 5,3 | 3 | sgt |

Ergebnisse: Aus Tabelle 20 geht hervor, daß in allen Fällen eine starke Hemmung des Pilzwachstums eintritt. Allerdings hatte der Extrakt von unzersetztem Gelbklee bei der entsprechenden Konzentration den Pilz ganz unterdrückt. Da nunmehr ein gewisses, wenn auch sehr geringes Wachstum stattfindet, müssen die im Gelbklee vorhandenen Hemmstoffe im Verlauf der Zersetzung wenigstens zum Teil inaktiviert worden sein. Andererseits kann die bei Gerste und Senf im Gegensatz zu früher beobachtete Schädigung des Parasiten nur auf Produkte des mikrobiellen Abbaus des Pflanzenmaterials zurückzuführen sein.

Freilich kann dieser Versuch, da die Zersetzungsvorgänge im Boden zweifellos anders verlaufen als im Thermostat, nicht mehr sein als ein Modellversuch. Als solcher weist er aber auf die Faktoren hin, auf die es offenbar ankommt: nämlich auf den Abbau der Pflanzenstoffe durch Mikroorganismen.

### 4. Die Bedeutung der allgemeinen Bodenmikroflora

Nimmt man an, daß die aktiven Einwirkungen der Fruchtfolgepflanzen auf *Ophiobolus* im Boden durch die Vermittlung der übrigen Mikroflora zustande kommen, so gliedert sich der ursächliche Zusammenhang zwangsläufig in zwei Schritte. Erstens muß durch den Anbau der Früchte bzw. durch Gründüngung die autochthone Bodenmikroflora quantitativ oder qualitativ

verändert werden. Zweitens müssen sich die Veränderungen auf *Ophiobolus* auswirken, und zwar — nach Lage der Dinge — nachteilig.

Betrachtet man zunächst den zweiten Schritt, so liegen in der Literatur zahlreiche Angaben über die Abhängigkeit des Parasiten von der übrigen Bodenmikroflora vor (vgl. die Arbeiten von SANFORD und BROADFOOT 1931; MORITZ 1932; BRÖMMELHUES 1935; LAL 1939; WINTER 1944, 1948; SLAGG und FELLOWS 1947 u. a.). Zwar wurden von diesen Autoren teilweise auch fördernde Einflüsse der Bodenmikroflora auf *O. graminis* festgestellt, doch überwogen Hemmungserscheinungen bei weitem. LUDWIG und HENRY (1943) fanden sogar direkte quantitative Beziehungen zwischen der Zahl der Bodenmikroben und der Unterdrückung von *Ophiobolus*.

An der entscheidenden Bedeutung der Bodenmikroflora für die Entwicklung des Parasiten ist somit nicht zu zweifeln. Ebenso sicher ist aber auch, daß das Edaphon seinerseits von Pflanzenwachstum und vor allem Gründüngung maßgeblich beeinflußt wird. Es würde zu weit führen, hier die zahlreichen Arbeiten zu nennen, aus denen die Steigerung der Keimzahlen im Boden durch Pflanzenwachstum, Rhizosphäreneffekt, Zuführung organischen Materials usw. überzeugend hervorgeht. Doch wurden vollständigkeitshalber auch in den eigenen Versuchen Keimzählungen durchgeführt, um auch hier die Gültigkeit der geschilderten Zusammenhänge nachzuweisen.

Methodik: Untersucht wurden dieselben, aus den Gefäßkulturen des zweiten Jahres stammenden Böden, die auch in ihrer Wirkung auf die Entwicklung von *Ophiobolus* geprüft worden waren. Sie enthielten also die entsprechenden Pflanzenmaterialien bzw. Ernterückstände und waren einheitlich auf 40 % ihrer maximalen Wasserkapazität gebracht worden. Ansatz der Keimzählungen 14 Tage nach Gründüngung bzw. acht Tage nach normaler Aberntung der Vorfrüchte. Plattenzählmethode. Die Zahlen für Pilze und Bakterien wurden getrennt auf verschiedenen Nährböden bestimmt. Verdünnungen: für Pilzzählungen $10^{-3}$ g Boden je Platte, für Bakterien $10^{-5}$ g. Vierfache Wiederholung. Pilzkolonien nach drei Tagen, Bakterien zuletzt nach acht bis neun Tagen ausgezählt.

*Tabelle 21*

Keimzahlen von Pilzen und Bakterien im Boden nach verschiedener Gründüngung bzw. nach der normalen Aberntung verschiedener Vorfrüchte, jeweils im Vergleich zu Brache

| Gründüngung bzw. Vorfrucht | Zahl der Pilzkeime | Rel. Zahlen | Stat. Sich. | Zahl der Bakterienkeime | Rel. Zahlen | Stat. Sich. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **a) nach Gründüngung** | | | | | | |
| Kontrolle (ohne Gründg.) | 13,0± 1,45 | 100 | — | 24,7± 1,98 | 100 | — |
| Gerste | 53,5± 6,34 | 412 | sgt | 162,3±15,72 | 657 | sgt |
| Senf | 162,5± 4,39 | 1250 | sgt | 201,8±18,35 | 817 | sgt |
| Gelbklee | 157,3±12,60 | 1210 | sgt | 104,5± 3,14 | 423 | sgt |
| **b) nach normaler Aberntung** | | | | | | |
| Kontrolle (Brache) | 18,8±1,99 | 100 | — | 34,3± 5,72 | 100 | — |
| Gerste | 49,3±3,44 | 262 | sgt | 88,0±17,11 | 257 | sw |
| Senf | 35,0±5,90 | 186 | sw | 113,7±32,24 | 331 | n |
| Gelbklee | 39,3±2,35 | 209 | sgt | 322,5±32,58 | 940 | sgt |

Ergebnisse: Erwartungsgemäß werden die Organismenzahlen im Boden durch Gründüngung in allen Fällen wesentlich erhöht; die Steigerungen, soweit sie durch die Plattenmethode erfaßbar sind, betragen etwa 400 bis 1200 % (Tabelle 21 a). Neben diesen absoluten Erhöhungen der Keimzahlen waren teilweise auch qualitative Unterschiede deutlich festzustellen. So traten auf den Gerstenplatten fast immer Schimmelpilze vom *Mucor*-Typ auf, welche bei den Kontrollen und den übrigen Versuchsgliedern fast durchweg fehlten.

Im Vergleich zu Gründüngung sind die nach der normalen Aberntung der verschiedenen Früchte ermittelten Steigerungen der Organismenzahlen viel geringer (Tabelle 21 b). Von einer Ausnahme abgesehen, liegen sie nur bei ungefähr 200 bis 300 %. Dieser geringeren Förderung der Mikroflora entspricht genau die gleichzeitig festgestellte schwächere Hemmwirkung auf *Ophiobolus* (vgl. Tabelle 5 und 8).

### 5. Besprechung

Zur Erklärung des ursächlichen Zusammenhangs zwischen Fruchtfolgemaßnahmen und Entwicklung von *Ophiobolus graminis* im Boden waren vier Möglichkeiten angenommen worden. Davon kam den beiden ersten, nämlich den Einflüssen der Bodenazidität bzw. der Verfügbarkeit mineralischer Nährstoffe, von vornherein weniger Gewicht zu. Tatsächlich ergaben die Untersuchungen, daß sie nicht von wesentlicher Bedeutung sein können.

Dagegen erschien eine direkte Schädigung des Pilzes durch von den Fruchtfolgepflanzen gebildete toxische Substanzen zunächst sehr wohl denkbar. In den eigenen Versuchen konnte jedoch kein Nachweis dafür erbracht werden. Vielmehr wurden fast durchweg fördernde Einwirkungen festgestellt. Freilich ist es nicht ausgeschlossen, daß eventuell durch andere, besonders geartete Pflanzen dem Boden wirksame Mengen fungizider bzw. fungistatischer Agenzien zugeführt werden können. Bei den hier untersuchten Fruchtfolgepflanzen scheint dies aber nirgends der Fall zu sein.

Letzten Endes müssen also die Auswirkungen der Fruchtfolgemaßnahmen einschließlich Gründüngung auf *Ophiobolus* überwiegend durch die Interferenz der allgemeinen Bodenmikroflora zustandekommen. In Übereinstimmung damit ergab sich eine gute Korrelation zwischen den Keimzahlen im Boden und der Hemmwirkung auf den Parasiten.

Diese Anschauung von der grundlegenden Bedeutung der allgemeinen Mikroflora führt zu einigen Folgerungen. So müssen z. B. solche Kulturen auf *Ophiobolus* und damit auf die Schwarzbeinigkeit den stärksten Einfluß haben, welche am intensivsten auf die Bodenmikroflora einwirken. Nun geht aus den Arbeiten von Starkey (1929 b und c) hervor, daß gerade Raps die Tätigkeit der Mikroorganismen im Boden besonders stark stimuliert. Ähnliches gilt nach Gräf (1930) für den Rübsen. In Verbindung mit der relativ langen Vegetationsdauer dieser Früchte resultiert hieraus eine Erklärungsmöglichkeit für die immer wieder behauptete fußkrankheitsvermin-

dernde Vorfruchtwirkung der genannten Kulturen, welche die kaum vertretbare Annahme direkter Senföleinflüsse überflüssig macht.

Ob für die ausgeprägt hemmenden Einwirkungen von Gründüngung in erster Linie die Förderung bestimmter Arten bzw. Gruppen von Bodenmikroben oder mehr eine allgemeine Vermehrung der Organismenzahlen verantwortlich zu machen ist, läßt sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit nicht eindeutig entscheiden. Doch entsteht im ganzen der Eindruck, daß spezifische Wirkungen einzelner Früchte, sofern solche überhaupt bestehen, hinter den generellen Vorteilen der Gründüngung zurücktreten. Die Abhängigkeit der Wirkung von der Mikroflora bedingt allerdings auch eine Abhängigkeit von den Bodenverhältnissen überhaupt. Denn da die Zusammensetzung des Edaphons in verschiedenen Böden wechselt, werden auch die Abbauvorgänge nicht überall gleich verlaufen. Die Ergebnisse der eigenen Versuche gelten daher strenggenommen nur für die dabei benutzten Böden. Andererseits darf man wohl angesichts der Tatsache, daß Gründüngung unter allen Umständen zu einer Förderung der mikrobiellen Aktivität und niemals etwa zum Gegenteil führen wird, doch auf eine gewisse Allgemeingültigkeit schließen, wenn auch der Wirkungsgrad nach den jeweiligen Bedingungen wechselnd sein kann.

Darüber hinaus haben die hier erörterten Zusammenhänge wahrscheinlich nicht nur für *Ophiobolus graminis* Geltung. In seiner zusammenfassenden Übersicht über die Ökologie der wurzelbewohnenden Pilze führt GARRETT (1950) aus, daß die zunehmende Anpassung der Organismen an die parasitäre Lebensweise zwangsläufig einen Verlust an saprophytischer Konkurrenzfähigkeit zur Folge hat. Je spezialisierter also ein Erreger von Wurzelkrankheiten ist, um so mehr wird er in seiner saprophytischen Lebensphase unter dem Antagonismus der übrigen Bodenbewohner leiden. Für eine solche Abhängigkeit der Parasiten spricht auch eine Reihe von Einzeluntersuchungen verschiedener Forscher. Es darf daher abschließend angenommen werden, daß gerade Gründüngung eine Maßnahme ist, die ganz allgemein zur Entseuchung des Bodens beiträgt. Diese bodenhygienische Wirksamkeit gesellt sich zu ihren übrigen ackerbaulichen Vorzügen. Sichere Wirkungen im Einzelfall sind jedoch infolge der indirekten Art ihrer Einwirkung nicht gewährleistet. Die günstigen Einflüsse äußern sich mehr im ganzen und auf weite Sicht. Vor allem sind Radikalwirkungen, wie wir sie von chemischen Bekämpfungsmaßnahmen her kennen, auf diesem Wege nicht zu erwarten.

## Zusammenfassung

1. Die vorliegende Arbeit setzt sich zum Ziel, die Einwirkung verschiedener Fruchtfolgepflanzen und -maßnahmen auf das saprophytische und parasitische Wachstum von *Ophiobolus graminis* — nicht auf die von ihm verursachte Krankheit — zu untersuchen.
2. Bei Zusatz zerkleinerten Pflanzenmaterials zu Biomalzagar in einer bestimmten Konzentration üben besonders die Leguminosen deutliche

Hemmwirkungen auf den Parasiten aus. Gelb- und Rotklee sowie Hafer verhindern seine Entwicklung vollständig.

3. Dagegen wird der Pilz durch den Zusatz wässeriger, mechanisch sterilisierter Pflanzenextrakte zu einer Nährlösung fast durchweg gefördert. Eine Ausnahme bildet lediglich der Gelbklee, der auch nach diesem Verfahren eine Hemmung des Parasiten bewirkt.

4. Durch den Zusatz zerkleinerten Pflanzenmaterials zu einem beliebig ausgewählten Boden wird sowohl die saprophytische als auch die parasitische Entwicklung von *Ophiobolus* sehr unterschiedlich beeinflußt, wenn auch insgesamt die hemmenden Einflüsse etwas überwiegen.

5. Im Vergleich dazu wird der Pilz durch Gründüngung mit verschiedenen Früchten sehr viel einheitlicher und deutlicher gehemmt. Dies wird darauf zurückgeführt, daß in diesem Falle die Pflanzen auch schon während ihres Wachstums Einfluß auf die Bodenverhältnisse nehmen konnten.

6. Das saprophytische und parasitische Wachstum von *Ophiobolus* in Böden, welche verschiedene Vorfrüchte bis zu ihrer Reife getragen hatten, ist nicht wesentlich geringer als in brach gehaltenen Kontrollen. Die Ernterückstände reichen offenbar nicht aus, um durch Abbauvorgänge usw. eine wesentliche Beeinträchtigung des Pilzes auszulösen.

7. Überhaupt scheint die Einbringung und Zersetzung größerer Mengen von Pflanzenmaterial im Boden hinsichtlich der Hemmwirkung auf den Parasiten von entscheidender Bedeutung zu sein. Dagegen spielen jene Einflüsse, welche die Pflanzen schon während ihres Wachstums dem Boden mitteilen, für sich allein offenbar keine große Rolle. Eine Ausnahme hiervon bilden vielleicht Kulturen mit relativ langer Vegetationsdauer, vor allem Raps und Rübsen.

8. Die hemmenden Einwirkungen auf die Entwicklung von *Ophiobolus* machen sich in der saprophytischen Phase stärker bemerkbar als in der parasitischen. Dies bedeutet, daß der Parasit z. B. durch Gründüngung besonders dann zu treffen sein wird, solange er rein saprophytisch im Boden ausdauert.

9. Die Auswirkungen von Gründüngung und Vorfrüchten auf dem Felde sind grundsätzlich dieselben wie in Gefäßkulturen.

10. Auch zwei verschiedene *Ophiobolus*-Stämme werden prinzipiell in derselben Weise beeinflußt. Jedoch wird die schwächer pathogene Form durch die schädigenden Agenzien anscheinend stärker betroffen.

11. Zur Erklärung des ursächlichen Zusammenhangs zwischen Fruchtfolgemaßnahmen und der Entwicklung des Pilzes im Boden werden vier Möglichkeiten erörtert:

    a) Wirkung über den p H - G r a d des Bodens. Diese Möglichkeit scheidet jedoch infolge der verhältnismäßig weiten pH-Verträglichkeit

von *Ophiobolus* und angesichts des geringen Einflusses von Gründüngung und Vorfrüchten auf die Bodenreaktion aus.

b) Konkurrenz zwischen *Ophiobolus* und höheren Pflanzen bezüglich der verfügbaren anorganischen Nährstoffe. Durch Zusatz solcher Stoffe ($NH_4NO_3$, Thomasphosphat, $K_2SO_4$) zu Sand bzw. Boden wird jedoch der Parasit entweder überhaupt nicht betroffen oder sogar geschädigt.

c) Unmittelbare Schädigung des Pilzes durch von den höheren Pflanzen gebildete toxische Stoffe. Zunächst konnte gezeigt werden, daß die in den Cruciferen auftretenden Senföle hierfür wohl kaum in Frage kommen. Untersuchungen mit Gerste, Senf und Gelbklee ergaben weiterhin, daß sowohl wässerige Extrakte aus den Pflanzen als auch Wurzelausscheidungen bei Anwendung in Sand das Wachstum von *Ophiobolus* fördern. Dies gilt gerade auch für den Gelbklee, der sich in künstlichen Nährmedien gegensätzlich auf den Pilz auswirkt.

d) Übrig bleibt schließlich nur die Annahme, daß die Hemmwirkungen auf *Ophiobolus* durch die Vermittlung der allgemeinen Bodenmikroflora zustandekommen. Und zwar dergestalt, daß die Fruchtfolgemaßnahmen primär eine Förderung der Bodenorganismen verursachen, welche dann sekundär die Entwicklung des wenig konkurrenzfähigen Parasiten beeinträchtigen. Beide Teilschritte dieses Vorgangs lassen sich durch Angaben aus dem Schrifttum gut belegen. Auch in den eigenen Versuchen ergeben sich einerseits gesteigerte Keimzahlen nach Gründüngung bzw. Aberntung verschiedener Vorfrüchte, andererseits deutliche Korrelationen zwischen der Erhöhung der Keimzahlen und der Hemmwirkung auf den Pilz.

12. Der saprophytischen Bodenmikroflora kommt daher eine grundlegende Bedeutung für all diese Prozesse zu. Aus dieser Tatsache werden verschiedene Folgerungen abgeleitet. Besonders werden die allgemeinen bodenhygienischen Vorzüge von Gründüngungsmaßnahmen hervorgehoben, welche sich allerdings, infolge ihrer indirekten Wirkungsweise, im Einzelfall nicht unbedingt oder gar radikal, vielmehr in der Gesamtheit und auf weite Sicht äußern.

---

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. B. RADEMACHER, möchte ich an dieser Stelle für die Anregung zu der vorliegenden Arbeit und für stete Förderung bei der Ausführung derselben herzlich danken. Ferner danke ich Frl. Dr. H. Müller vom hiesigen Institut für zahlreiche Ratschläge bei mikrobiologischen Arbeiten.

## Literaturverzeichnis


1. Amsler, P., 1950. Untersuchungen über die wachstumsfördernde Wirkung einiger natürlicher Extrakte auf *Ustilago violacea* (Pers.) Fuck. — Mitt. naturf. Ges. Bern, N. F., **7**, 53—96 (Ref. Rev. appl. Mycol. **30**, 1951, 427).
2. Bockmann, H., 1953. Fruchtfolge und Ackerverunkrautung unter besonderer Berücksichtigung der Schwarzbeinigkeit des Weizens. — Mitt. B. Z. A., **75**, 179—180.
3. Broadfoot, W. C., 1934. Studies on foot and root rot of wheat. III. Effect of crop rotation and cultural practice on the development of foot rot of wheat. — Can. J. Res. **10**, 95—114.
4. Brömmelhues, M., 1935. Die wechselseitige Beeinflussung von Pilzen und die Bedeutung der Pilzkonkurrenz für das Ausmaß der Schädigung an Weizen durch *Ophiobulus graminis* Sacc. — Zbl. Bakt., II, **92**, 81—116.
5. Cochrane, V. W., 1948. The role of plant residues in the etiology of root rot. — Phytopathology **38**, 185—196.
6. Czapek, F., 1921. Biochemie der Pflanzen. 2. Aufl., 3. Bd. — Jena.
7. Fellows, H., 1936. Nitrogen utilization by *Ophiobolus graminis*. — J. agric. Res. **53**, 765—769.
8. Frey-Wyssling, A., 1935. Die Stoffausscheidung der höheren Pflanzen. — Berlin.
9. Garrett, S. D., 1936. Soil conditions and the take-all disease of wheat. — Ann. appl. Biol. **23**, 667—699.
10. — —, 1943. Competition for nitrogen between the take-all fungus and the roots of crop plants. — Nature **152**, 417—418.
11. — —, 1950. Ecology of the root inhabiting fungi. — Biol. Rev. **25**, 220—254.
12. Gäumann, E., 1946. Pflanzliche Infektionslehre. — Basel.
13. Glynne, M. D., 1935. Incidence of take-all on wheat and barley on experimental plots at Woburn. — Ann. appl. Biol. **22**, 225—235.
14. Gräf, G., 1930. Über den Einfluß des Pflanzenwachstums auf die Bakterien im Wurzelbereich. — Zbl. Bakt., II, **82**, 44—69.
15. Härdtl, H., 1951. Über die Wirkung des Senföls auf Tier und Pflanze. — Nachrbl. Dtsch. Pflanzenschutzd., N. F., **5**, 91—94.
16. Hildebrand, A. A. and West, P. M., 1941. Strawberry root rot in relation to microbiological changes induced in root rot soil by the incorporation of certain cover crops. — Can. J. Res., C, **19**, 183—198.
17. Kirby, R. S., 1922. The take-all disease of cereals and grasses. — Phytopathology **12**, 66—88.
18. Köhler, H., 1950. Antibiotika und ihre Bedeutung in der Pflanzenpathologie. — Nachrbl. Dtsch. Pflanzenschutzd., N. F., **4**, 161—164 und 185—193.
19. Kostytschew, S., 1926. Lehrbuch der Pflanzenphysiologie. 1. Bd. — Berlin.
20. Krassilnikow, N. A., 1949. Die Mikroorganismen im Boden und der Pflanzenertrag. — Agrobiologie 1949, Nr. 2 (Übersetzung in „Blick in die sowjetische Landwirtschaft" II, 31—45, Berlin 1950).
21. Lal, A., 1939. Interaction of soil micro-organisms with *Ophiobolus graminis* Sacc., the fungus causing the take-all disease of wheat. — Ann. appl. Biol. **26**, 247—261.
22. Ludwig, R. A. and Henry, A. W., 1943. Studies on the microbiology of recontaminated sterilized soil in relation to its infestation with *Ophiobolus graminis* Sacc. — Can. J. Res., C, **21**, 343—350 (Ref. Rev. appl. Mycol. **23**, 1944, 130).
23. McKinley, A. D., 1931. Effects of sorghum plants on biological activities in the soil. — Soil Sci. **32**, 469—480.
24. Moritz, O., 1932. Weitere Studien über die Ophiobolose des Weizens. — Arb. B. R. A. **20**, 27—48.
25. — —, 1933. Die Getreidefußkrankheiten. — Landw. Wbl. f. Schlesw.-Holst. **83**, 331 bis 333.

26. MUDRA, A., 1949. Anleitungen zur Durchführung und Auswertung von Feldversuchen nach neueren Methoden. — Leipzig.

27. MÜLLER-KÖGLER, E., 1938. Untersuchungen über die Schwarzbeinigkeit des Getreides und den Wirtspflanzenkreis ihres Erregers (*Ophiobolus graminis* Sacc.). — Arb. a. d. B. R. A. **22**, 271—319.

28. SANFORD, G. B. and BROADFOOT, W. C., 1931. Studies of the effects of other soil-inhabiting micro-organisms on the virulence of *Ophiobolus graminis* Sacc. — Scientific Agric. **11**, 512—528 (Ref. Dtsch. Landw. Rundsch. **9**, 1932, 83).

29. SCHAFFNIT, E. und MEYER-HERMANN, K., 1930. Über den Einfluß der Bodenreaktion auf die Lebensweise von Pilzparasiten und das Verhalten ihrer Wirtspflanzen. — Phytopath. Z. **2**, 99—166.

30. SLAGG, C. M. and FELLOWS, H., 1947. Effects of certain soil fungi and their by-products on *Ophiobolus graminis*. — J. agric. Res. **75**, 279—293 (Ref. Rev. appl. Mycol. **27**, 1948, 228—229).

31. SMITH, N. R. and HUMFELD, H., 1930. Effect of rye and vetch green manures on the microflora, nitrates, and hydrogen-ion concentration of two acid and neutralized soils. — J. agric. Res. **41**, 97—123.

32. STARKEY, R. L., 1929 a. Some influences of the development of higher plants upon the microorganisms in the soil: I. Historical and introductory. — Soil Sci. **27**, 319—334.

33. — —, 1929 b. Some influences ....: II. Influence of the stage of plant growth upon abundance of organisms. — Soil Sci. **27**, 355—378.

34. — —, 1929 c. Some influences ....: III. Influence of the stage of plant growth upon some activities of the organisms. — Soil Sci. **27**, 433—444.

35. — —, 1931. Some influences ....: IV. Influence of proximity to roots on abundance and activity of microorganisms. — Soil Sci. **32**, 367—393.

36. STOKLASA, J. und ERNEST, A., 1909. Beiträge zur Lösung der Frage der chemischen Natur des Wurzelsekretes. — Jb. wiss. Bot. **46**, 55—102.

37. STUMBO, C. R., GAINEY, P. L. and CLARK, F. E., 1942. Microbiological and nutritional factors in the take-all disease of wheat. — J. agric. Res. **64**, 653—665.

38. WEHMER, C., 1911. Die Pflanzenstoffe. — Jena.

39. WHITE, N. H., 1943. The effect of biotin and thiamin on the growth of fungi isolated from lesioned roots of take-all affected wheat. — J. Aust. Inst. agric. Sci. **9**, 36 (Ref. Rev. appl. Mycol. **22**, 1943, 348—349).

40. WINTER, G., 1939. Der Einfluß der physikalischen Bodenstruktur auf den Infektionsverlauf bei der Ophiobolose des Weizens. — Z. Pflanzenkrankh. **49**, 513—559.

41. — —, 1944. Der Einfluß partieller Sterilisation des Bodens auf die Entwicklung der Laufhyphen von *Ophiobolus graminis*. — Phytopath. Z. **14**, 204—302.

42. — —, 1947. Eine Methode zur quantitativen Bestimmung des Wachstums parasitischer oder saprophytischer Pilze im natürlichen Boden. — „Festschrift APPEL" d. B. Z. A., Berlin-Dahlem.

43. — —, 1948. Untersuchungen über die Beziehungen zwischen *Ophiobolus graminis* und anderen Organismen mit Hilfe der Aufwuchsplattenmethode. — Arch. Mikrobiol. **14**, 240—270.

44. — —, 1949. Rhizosphäre und Krankheitsresistenz. — Z. Pflanzenkrankh. **56**, 93—95.

45. — —, 1950. Untersuchungen über die Ökologie und den Massenwechsel bodenbewohnender mikroskopischer Pilze. I. Die Bedeutung organischer Nährstoffe für die Entwicklung von *Ophiobolus graminis* in der Rhizosphäre und im freien Boden. — Arch. Mikrobiol. **15**, 42—71.

46. — —, 1951. Untersuchungen über die Verbreitung und Bedeutung der Mykorrhiza bei kultivierten Gramineen und einigen anderen landwirtschaftlichen Nutzpflanzen. — Phytopath. Z. **17**, 421—432.

47. ZOGG, H., 1951. Studien über die Pathogenität von Erregergemischen bei Getreidefußkrankheiten. — Phytopath. Z. **18**, 1—54.

*Aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon*
*Direktor: Dr. R. Salzmann*

# Methode zur laboratoriumsmäßigen Bestimmung der Fernwirkung von Getreidebeizmitteln

Von

Hans Zogg

*Mit 2 Abbildungen*

Eingegangen am 30. April 1954

## Problemstellung

Die Bekämpfung des Stinkbrandes des Weizens (*Tilletia tritici*) stößt vor allem dann auf Schwierigkeiten, wenn es sich um die Verhütung der Infektion vom Boden her handelt. Dasselbe Problem stellt sich bekanntlich in noch größerem Maße beim Zwergbrand des Weizens (*Tilletia brevifaciens* G. W. Fischer). Seit einigen Jahren wird nach Beizmitteln gesucht, die eine gewisse Fernwirkung besitzen. Der Nachweis dieser Fernwirkung erfolgt einerseits im Feldversuch, der wohl eindeutige Resultate liefert, aber für große Serienuntersuchungen kaum geeignet ist. Anderseits werden Laboratoriumsversuche durchgeführt, die z. B. darauf beruhen, daß im geschlossenen Raum (gedeckte Petrischalen) die Beeinflussung der Brandsporenkeimung (Sporen auf fein gesiebte oder geschlämmte Erde gestreut) durch solche Beizmittel beobachtet wird (eine bestimmte Menge Beizmittel, meistens einige mg als Häufchen in die Mitte der Petrischalen auf die Erde gebracht). Diese Methode entspricht nur in geringem Maße den natürlichen Verhältnissen. Einerseits können sich durch die Verwendung des geschlossenen Raumes Fehlresultate ergeben. Anderseits ist die Dosierung des Beizmittels zu hoch. Im Acker liegen die Verhältnisse ganz anders, wenn man bedenkt, daß 2 g des Beizmittels auf 1 kg Saatweizen gebraucht werden. Bei einer relativ hohen Saatmenge von z. B. 2 kg/a und einem Tausendkorngewicht von 40 g kommt auf 20 $cm^2$ ein Korn zu liegen; bei Drillsaat liegen die Körner in der Reihe etwa 2 bis 3 cm voneinander entfernt. Auf Grund dieser Angaben folgt, daß an einem einzelnen Korn nur etwa 0,08 mg Beizmittel haften.

Es wurde eine Methode entwickelt, die gestattet, unter annähernd natürlichen Verhältnissen die Fernwirkung von Beizmitteln (Trocken-, Netz- und Naßbeizmittel) gegenüber dem Stinkbrand des Weizens zu prüfen. Die gleiche

Methode kann ohne weiteres auch für andere Brandarten, wie z. B. für den Zwergbrand des Weizens, unter Beachtung der jeweils günstigsten Keimbedingungen verwendet werden.

### Methode

Zur Verwendung kommen Tontöpfe (z. B. mit 7 cm oberem Durchmesser), die zu etwa drei Viertel mit Terralit (Vermikulit) oder einem Material mit ähnlichem guten, wasserhaltenden Vermögen gefüllt sind. Dieser Untergrund (z. B. 100 ccm) wird gut angefeuchtet (z. B. 70 ccm Wasser), und auf die Oberfläche gesiebte, lufttrockene Erde in einer Schicht von etwa 1,5 bis 2 cm aufgestreut, ohne diese weiter anzufeuchten. Dadurch wird eine regelmäßige Wasserverteilung und ein regelmäßiger Wassernachschub in der Erdschicht gewährleistet, was für eine regelmäßige Sporenkeimung unbedingt notwendig ist. Die Oberfläche dieser Erdschicht wird mit einem Spatel glattgestrichen, sobald die Erde feucht geworden ist. Sodann werden die Brandsporen mittels eines feinen Haarsiebes aufgestreut. Für 100 Töpfe von 7 cm Durchmesser werden etwa 70 ccm Brandsporen gebraucht. Es dürfen sich keine Sporenklumpen bilden, weshalb die Brandsporen nach dem Zerschlagen der Brandbutten fein ausgesiebt werden. Die Sporen werden in einer regelmäßigen dünnen, lückenlosen Schicht aufgestreut und mit einem feinen Pinsel auf der Oberfläche verstrichen, oder durch tupfende Bewegung verteilt und die nur lose sitzenden Sporen weggeblasen. Das Glattstreichen der Oberfläche ist nicht unbedingt notwendig. Je nach der Versuchsfrage kann zwecks besserer Durchlüftung der Erdschicht auch nicht glattgestrichene Erde verwendet werden. In diesem Falle werden die Sporen direkt aufgestreut und nicht mit dem Pinsel verstrichen. Hierauf drückt man die verschieden gebeizten bzw. nicht gebeizten Körner mit der Pinzette einzeln bis zur Hälfte ein (Längsachse der Körner horizontal, Furche nach unten gerichtet), wobei darauf zu achten ist, daß keine unnötigen Löcher in der Erde entstehen oder Spuren des Beizmittels abfallen und auf die Oberfläche der Töpfe gelangen. Die Töpfe werden offen in einen Kellerraum bei etwa 10 bis 12 ° C (wenn mit *Tilletia tritici* gearbeitet wird) gestellt und können nach acht bis zehn Tagen kontrolliert werden. Eine weitere Wartung ist nicht notwendig.

### Modifikationen

a) Handelt es sich darum, möglichst gut sichtbare Höfe von nicht gekeimten Sporen zu erhalten oder die Wirkung einer subletalen Dosis in den Randgebieten der Wirkungszone oder die Abnahme der Wirkung von Beizmitteln bei überlagertem Saatgut usw. zu studieren, wird zweckmäßigerweise die Variante der glattgestrichenen Erde und der mit Pinsel aufgestrichenen oder aufgetupften Sporen in Frage kommen.

b) Handelt es sich dagegen darum, zu erfahren, wie weit die Wirkung eines Beizmittels in der Erde reicht, wird die Variante mit der nicht glattgestrichenen Erde und den nur lose aufgestreuten Sporen verwendet. Die zu untersuchenden Körner werden dabei in der gewünschten Tiefe in der

Erdschicht ausgelegt bzw. mit der entsprechenden notwendigen Schicht Erde überdeckt und die Sporen erst nachträglich aufgestreut.

c) Es hat sich gezeigt, daß die Ausbildung des Hemmhofes verschieden sein kann, je nachdem mit lebenden gebeizten oder abgetöteten gebeizten Körnern gearbeitet wird (abgetötete Körner: vier Stunden vorquellen in Leitungswasser, zwei Stunden bei 120 ° C abtöten, auslegen während eines Tages im Laboratorium zur Wiederaufnahme der normalen Luftfeuchtigkeit, Beizen wie lebende Körner). Diese Auswirkungen werden weiter unten an einem Beispiel dargelegt. Um den natürlichen Verhältnissen näher zu kommen, wird empfohlen, mit lebenden Körnern zu arbeiten.

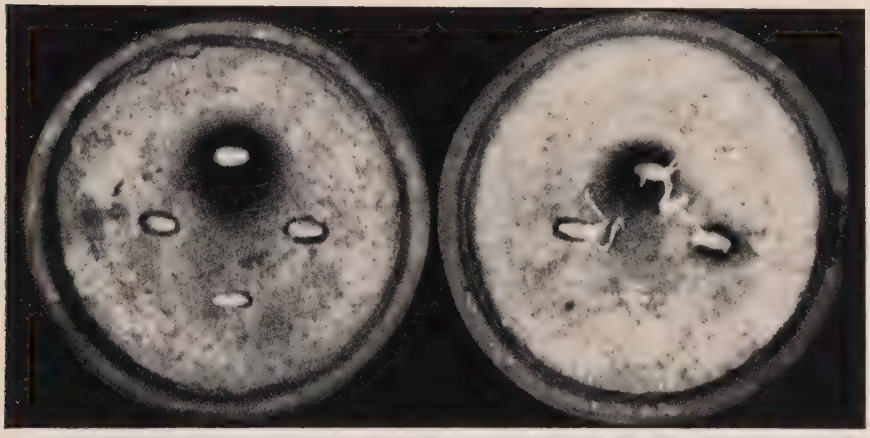

Abb. 1. Fernwirkung von Getreidebeizmitteln. Erklärung im Text

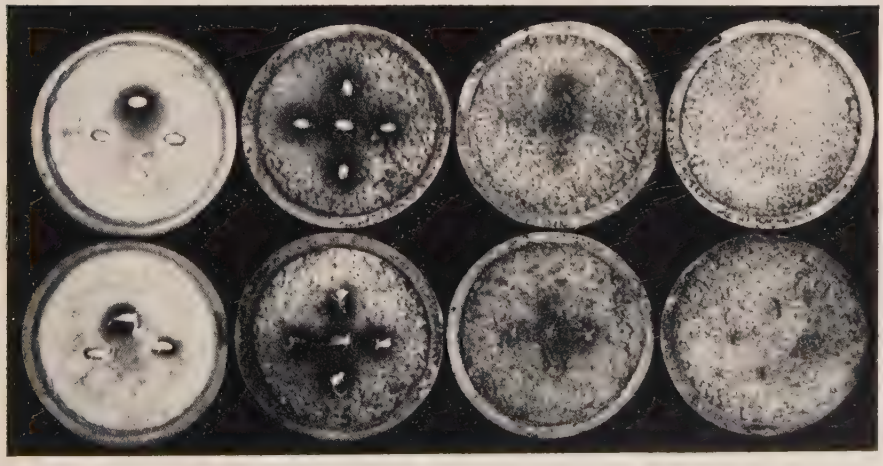

Abb. 2. Fernwirkung von Getreidebeizmitteln; Körner in verschiedenen Tiefen ausgelegt. Weitere Erklärungen im Text

## Beispiele

### a) Untersuchungen über die Fernwirkung von verschiedenen Beizmitteln

Die Oberfläche der Erde wurde glattgestrichen und die mit den Präparaten A bzw. B bzw. C gebeizten bzw. die ungebeizten Körner auf der Oberfläche angedrückt (Abb. 1; Topf links: Körner abgetötet, Topf rechts: Körner lebend). Es wurden je 50 g Körner gebeizt (Beizdauer etwa 5 bis 10 Min.). Korn unten: nicht gebeizt; Korn links: gebeizt mit Präparat A; Korn oben: gebeizt mit Präparat B; Korn rechts: gebeizt mit Präparat C. Am besten werden solche Versuche in zehnfacher Wiederholung angelegt. Je Topf (7 cm Durchmesser) können maximal acht Präparate nebeneinander geprüft werden. In diesem Beispiel zeigte das Präparat B eine relativ gute Fernwirkung, die im schwarzen Hof um das Korn herum zum Ausdruck kommt. In der Randzone des etwa 6 bis 8 mm breiten Hofes konnte keine Stimulation der Keimung beobachtet werden. Die Präparate A und C zeigten praktisch keine Fernwirkung.

### b) Unterschiede in der Fernwirkung desselben Beizmittels bei lebenden bzw. toten Körnern

Der Topf links in der Abb. 1 läßt den konzentrischen Hof gut erkennen; hier wurden abgetötete Körner verwendet. Dagegen zeigt der Topf rechts (lebende Körner), daß der Hof, den das Präparat B bewirkt, exzentrisch ausgebildet ist. Die Sporen, die in der Nähe des Schildchens, also nahe dem wachsenden Keimling liegen, vermochten noch in seiner nächsten Nähe zu keimen. Auf dieser Kornseite ist also keine Hofbildung zu beobachten. Dagegen sind die Sporen, die in der Nähe der behaarten Kornspitze liegen, abgetötet worden. Es handelt sich hier um eine lokale Inaktivierung des Beizmittels durch das keimende Korn.

### c) Nachweis der Fernwirkung in der Erde

Der Nachweis einer Fernwirkung von Beizmitteln im Boden wird am besten so geführt, daß die gebeizten Körner sowohl an der Oberfläche als auch in verschiedenen Tiefen ausgelegt werden. Die Wirkung wird wiederum an Hand der Keimung von Brandsporen, die auf der Oberfläche liegen, nachgeprüft, wie es die Abb. 2 veranschaulicht. In der oberen Topfreihe handelt es sich um abgetötete, in der unteren um lebende Körner. Beim ersten Topfpaar (tote bzw. lebende Körner) wurde die Erde als Kontrolle glattgestrichen und mit ungebeizten bzw. mit den Präparaten A, B und C gebeizten Körnern beschickt (gleiche Anordnung wie in Abb. 1). Bei den übrigen Topfpaaren wurde die Erde nur aufgestreut, aber nicht glattgestrichen, und zudem kamen nur mit dem Präparat B behandelte Körner zur Verwendung. Die gebeizten Körner wurden auf der Oberfläche (zweites Topfpaar) ausgelegt und die Sporen daraufgestreut. Die Fernwirkung des Präparates B konnte sowohl

bei den toten als auch bei den lebenden Körnern bei einer Saattiefe von 3 mm festgestellt werden (Topfpaar 3), nicht aber bei einer Saattiefe von 1 cm (Topfpaar 4).

**Summary**

The here described method has been used to study the efficiency of chemicals for seed treatment in order to inhibit the germination of bunt spores at a certain distance of the treated grain.

Unglazed clay pots are filled to $^3/_4$—$^4/_5$ of their heights with vermiculite (Terralit) or some other substance with a good water-holding capacity. Water was added at a rate of 70 ml to 100 ml of vermiculite. The rest of the pot (1.5 to 2 cm) was filled with airdry soil passed through a fine-mesh sieve without additional moistening.

The surface becoming moist by the surplus water of the bottom layer was made even with a spatula. Grains treated with the chemicals to be tested were planted on the surface and the pots were incubated for 8 to 10 days at a temperature of 10 to 12 ° C in the basement (Fig. 1).

In order to test the efficiency of the chemicals beneath the surface was not smoothed and the grains were planted at different depths (e. g. surface, 3 mm, 1 cm). The zones of inhibition give direct evidence of the activity of the chemicals through the soil (Fig. 2).

This method can also be used with other bunts, e. g. dwarf bunt, changing the environmental factors for optimal germination of the spores.

*Mitteilung aus der Eidgenössischen Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt Zürich-Oerlikon*

*Direktor: Dr. R. Salzmann*

*und der Schweizerischen Hagelversicherungsgesellschaft Zürich*

*Direktor: Dr. E. Fäh*

# Untersuchungen über Hagelschäden

## IV. Roggen

Von

Hans Zogg

*Mit 4 Abbildungen*

Eingegangen am 30. April 1954

An Hand von Versuchen während der Jahre 1951 bis 1953 wurden als Fortführung der früher begonnenen Arbeiten (Zogg, Phytopath. Z. Bd. 15, S. 124—135, l. c. S. 136—141, l. c. Bd. 18, S. 287—292) die Verluste an Roggen (Petkuser Winterroggen, Normalstroh) bestimmt, die durch einfache Knickungen in verschiedenen Wachstumsstadien zustande kommen. Die Charakterisierung der einzelnen Wachstumsstadien ist am Beispiel des Jahres 1953 (Tabelle 1) erläutert. Die Versuchsanlage wurde so gewählt, daß neben jeder behandelten Parzelle eine unbehandelte zu liegen kam. Die Parzellengröße betrug 2 $m^2$. Die einzelnen Verfahren wurden in fünf Blöcken regellos verteilt, was die Auswertung der Resultate nach der Streuungszerlegung gestattete. Trotzdem die Witterung während der Vegetationsperiode der drei Versuchsjahre recht verschieden war (1951: normal, 1952: trocken, 1953: naß), konnte eine gute Übereinstimmung der Resultate festgestellt werden.

Die größten Verluste im Körnergewicht, Ährengewicht, Tausendkorngewicht und Hektolitergewicht traten, wie zu erwarten war, zur Zeit der Blüte und nach der Blüte zu Beginn der Körnerbildung auf. Die größten

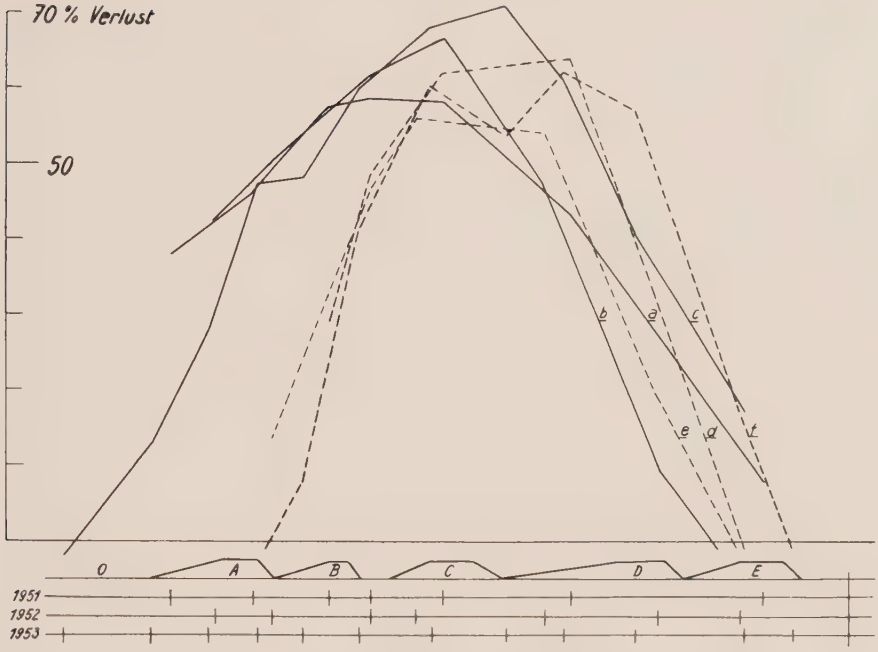


Abb. 1. Knickversuche bei Roggen. Verluste des Körnergewichtes. Abszisse: Behandlungsstadien; O: Bestockung; A: Schossen; B: Ährenschieben; C: Blüte; D: Milchreife; E: Gelbreife (je Beginn, Optimum und Ende des betreffenden Entwicklungsstadiums, als Trapez angegeben). 1951, 1952, 1953: Entsprechende Behandlungsdaten. Ausgezogene Kurven: Untere Knickungen (a: 1951; b: 1952; c: 1953); gestrichelte Kurven: Obere Knickungen (d: 1951; e: 1952; f: 1953). Ordinate: % Verlust gegenüber unbehandelt

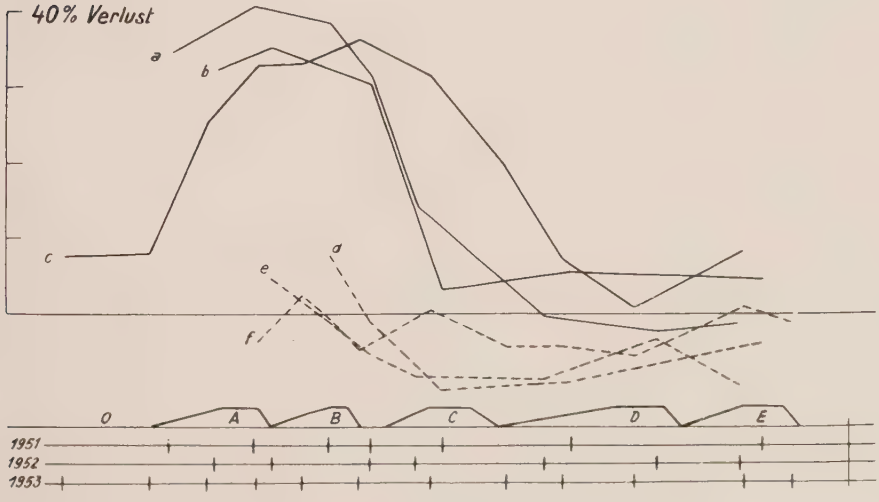


Abb. 2. Knickversuche bei Roggen. Verluste des Strohgewichtes. Legende siehe Abb. 1

Strohverluste für die unteren Knickungen zeigten sich zur Zeit des Schossens und während des Ährenschiebens. Es konnte ferner festgestellt werden, daß die Anzahl der gebildeten Ähren bei den unteren Knickungen zur Zeit der Blüte reduziert wurde. Die einzelnen Resultate sind aus den Tabellen 2 bis 4 und den Abb. 1 und 2 ersichtlich. Dabei mußten die in den drei Versuchsjahren zeitlich etwas gegeneinander verschobenen Entwicklungsrhythmen auf denselben Nenner gebracht werden. Die in den Abb. 1 und 2 eingezeichneten Trapeze A bis E geben Beginn, Optimum und Ende der mittleren Rhythmen der einzelnen Entwicklungsstadien für die Jahre 1951 bis 1953 an. Zudem sind die Behandlungszeiten für die einzelnen Versuchsjahre eingezeichnet.

Die Abb. 3 und 4 zeigen schließlich die Mittelwerte für das Körner- und Strohgewicht in den drei Versuchsjahren.

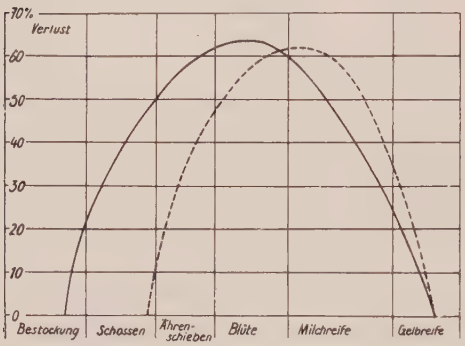


Abb. 3. Knickversuche bei Roggen. Mittlere Verlustkurven des Körnergewichtes. Abszisse: Behandlungsstadien; Ordinate: % Verlust gegenüber unbehandelt. Ausgezogene Kurve: untere Knickung; gestrichelte Kurve: obere Knickung

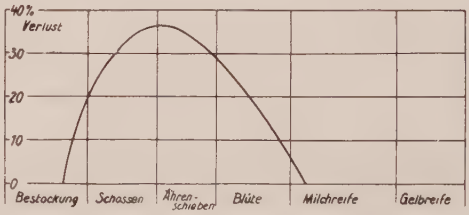


Abb. 4. Knickversuche bei Roggen. Mittlere Verlustkurven des Strohgewichtes. Abszisse: Behandlungsstadien; Ordinate: % Verlust gegenüber unbehandelt. Nur untere Knickungen; obere Knickungen: 0 % Verlust

*Tabelle 1*

Verfahren, Behandlungsdaten und Wachstumsstadien des Roggens zur Zeit der entsprechenden Behandlung im Jahre 1953. Ernte: 27. Juli

| Nr. des Versuchsplanes | Datum 1953 | Entwicklungsstadium des Roggens | Bemerkungen |
|---|---|---|---|
| 1 | 7.4. | Bestockung früh | Roggen etwa 10 bis 15 cm hoch. Drittes Blatt gut ausgebildet; viertes Blatt ist am Erscheinen; drei bis sieben Bestockungstriebe. — Pflanzen festgetreten. |
| 2 | 20.4. | Beginn des Schossens | Ährenanlage 2 bis 4 cm über dem Boden; Pflanzen etwa 20 bis 25 cm hoch. — Pflanzen festgetreten. |
| 3 | 27.4. | Während des Schossens | Ährenanlage etwa 12 cm über dem Boden; Pflanzen etwa 40 cm hoch. — Pflanzen 5 cm über dem Boden geknickt, ohne sie festzutreten. |
| 5 und 6 | 4.5. | Kurz vor dem Ährenschieben | Ähren in oberster Blattscheide, bei wenigen Ähren Grannen bereits erschienen. Pflanzen etwa 50 cm hoch. — 5: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 6: obere Knickung oberhalb der Ähren („Deckenblattlähmung"); die geknickten Blattscheiden federten leicht in die Ausgangslage zurück. |
| 7 und 8 | 11.5. | Beginn des Ährenschiebens | Einzelne Ähren zur Hälfte oder ganz aus der Blattscheide getreten, übrige noch in der Blattscheide drin; Pflanzen etwa 55 bis 60 cm hoch. — 7: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 8: obere Knickung knapp unterhalb der Ähre. |
| 9 und 10 | 18.5. | Vor der Blüte | Alle Ähren geschoben, noch nicht blühend; Pflanzen etwa 90 cm hoch. — 9: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 10: obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |
| 11 und 12 | 25.5. | Während der Blüte | Ähren blühen, Blüten stäuben. — 11: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 12: obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |
| 13 und 14 | 3.6. | Nach der Blüte | Junge Körner etwa 1/3 der Spelzenlänge. — 13: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 14: obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |
| 15 und 16 | 12.6. | Frühe Milchreife | Körner etwa ½ der Spelzenlänge; Inhalt gelbgrün, dünnflüssig. — 15: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 16: obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |
| 17 und 18 | 20.6. | Mittlere Milchreife | Körner etwa 3/4 der Spelzenlänge, grün, weich, z. T. verfestigt, noch nicht milchig. — 17: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 18: obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |
| 19 und 20 | 7.7. | Frühe bis mittlere Gelbreife | Körner treten zwischen den Spelzen heraus, gelb, Furche grün, Inhalt weiß, weich, feucht, kompakt. Halme beginnen oben gelb zu werden. — 19: untere Knickung 10 cm über dem Boden; 20: obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |
| 4 | 16.7. | Späte Gelbreife | Körner gelb, Furche grün, weich, wachsartig, können noch nicht gebrochen werden; Halme oben dürr, unten noch grün. Nur obere Knickung zwischen oberstem Halmknoten und Ähre. |

*Tabelle 2*

Zusammenstellung der Resultate der Knickversuche bei Petkuser Winterroggen (Normalstroh) 1951—1953.
Mittelwerte der Veränderungen in % gegenüber unbehandelt

| Stadium der Behandlung | Körnergewicht | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | untere Knickung | | | obere Knickung | | |
| | 1951 | 1952 | 1953 | 1951 | 1952 | 1953 |
| Bestockung früh | — | — | + 2,0 | — | — | — |
| Beginn des Schossens | – 38,0 | — | – 12,9 | — | — | — |
| Während des Schossens | – 46,2 | – 43,0 | – 27,9 | — | — | — |
| Kurz vor Ährenschieben | — | — | – 47,0 | — | — | + 4,8 |
| Beginn des Ährenschiebens | — | – 50,3 | – 48,2 | — | – 14,1 | – 8,1 |
| Während des Ährenschiebens | – 57,6 | — | — | – 29,1 | — | — |
| Vor der Blüte | – 59,0 | – 61,9 | – 60,7 | – 48,9 | – 47,3 | – 41,3 |
| Während der Blüte | – 58,8 | – 67,1 | – 68,7 | – 62,7 | – 56,5 | – 60,5 |
| Nach der Blüte | — | — | – 71,4 | — | — | – 53,9 |
| Frühe Milchreife | – 43,6 | – 47,1 | – 61,9 | – 64,4 | – 54,5 | – 62,4 |
| Mittlere Milchreife | — | — | – 41,4 | — | — | – 57,5 |
| Späte Milchreife | — | – 9,7 | — | — | – 19,2 | — |
| Frühe bis mittlere Gelbreife | — | — | – 17,8 | — | — | – 15,8 |
| Späte Gelbreife | – 8,0 | + 5,4 | — | + 8,0 | + 0,8 | + 1,0 |
| Grenzdifferenz 5 % | 9,1 | 14,3 | 10,8 | 9,1 | 14,3 | 10,8 |
| 1 % | 12,1 | 19,0 | 14,3 | 12,1 | 19,0 | 14,3 |

| Stadium der Behandlung | Strohgewicht | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | untere Knickung | | | obere Knickung | | |
| | 1951 | 1952 | 1953 | 1951 | 1952 | 1953 |
| Bestockung früh | — | — | – 7,5 | — | — | — |
| Beginn des Schossens | – 34,6 | — | – 8,0 | — | — | — |
| Während des Schossens | – 40,6 | – 32,1 | – 25,2 | — | — | — |
| Kurz vor dem Ährenschieben | — | — | – 32,8 | — | — | + 3,9 |
| Beginn des Ährenschiebens | — | – 35,2 | – 33,0 | — | – 4,6 | – 1,7 |
| Während des Ährenschiebens | – 38,5 | — | — | – 7,9 | — | — |
| Vor der Blüte | – 31,5 | – 30,3 | – 36,2 | + 1,0 | + 5,3 | + 4,4 |
| Während der Blüte | – 3,3 | – 14,3 | – 31,8 | +12,2 | + 8,4 | – 0,2 |
| Nach der Blüte | — | — | – 19,4 | — | — | + 4,6 |
| Frühe Milchreife | – 5,7 | + 0,3 | – 7,3 | + 9,3 | + 9,0 | + 4,6 |
| Mittlere Milchreife | — | — | – 0,7 | — | — | + 5,5 |
| Späte Milchreife | — | + 2,7 | — | — | + 3,5 | — |
| Frühe bis mittlere Gelbreife | — | — | – 8,7 | — | — | – 1,9 |
| Späte Gelbreife | – 4,6 | + 1,4 | — | + 4,3 | + 9,7 | + 1,2 |
| Grenzdifferenz 5 % | 15,5 | 10,5 | 10,8 | 15,5 | 10,5 | 10,8 |
| 1 % | 18,1 | 14,1 | 14,3 | 18,1 | 14,1 | 14,3 |

*Tabelle 3*

Zusammenstellung der Resultate der Knickversuche bei Petkuser Winterroggen (Normalstroh) 1951—1953.
Mittelwerte der Veränderungen in % gegenüber unbehandelt

| Stadium der Behandlung | Tausendkorngewicht | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | untere Knickung | | | obere Knickung | | |
| | 1951 | 1952 | 1953 | 1951 | 1952 | 1953 |
| Bestockung früh | — | — | – 0,7 | — | — | — |
| Beginn des Schossens | – 19,6 | — | – 4,0 | — | — | — |
| Während des Schossens | – 20,3 | – 20,3 | – 16,7 | — | — | — |
| Kurz vor Ährenschieben | — | — | – 25,6 | — | — | + 1,0 |
| Beginn des Ährenschiebens | — | – 20,6 | – 28,8 | — | – 4,0 | – 4,7 |
| Während des Ährenschiebens | – 25,2 | — | — | – 6,8 | — | — |
| Vor der Blüte | – 24,2 | – 29,7 | – 32,7 | – 11,1 | – 17,2 | – 11,7 |
| Während der Blüte | – 33,6 | – 35,2 | – 36,8 | – 44,0 | – 40,3 | – 34,7 |
| Nach der Blüte | — | — | – 42,6 | — | — | – 37,7 |
| Frühe Milchreife | – 31,5 | – 39,3 | – 42,3 | – 50,4 | – 44,0 | – 48,4 |
| Mittlere Milchreife | — | — | – 31,1 | — | — | – 46,7 |
| Späte Milchreife | — | – 15,4 | — | — | – 21,5 | — |
| Frühe bis mittlere Gelbreife | — | — | – 10,4 | — | — | – 12,6 |
| Späte Gelbreife | + 2,0 | + 1,7 | — | + 1,0 | – 3,2 | – 1,4 |
| Grenzdifferenz 5 % | 4,2 | 8,2 | 4,9 | 4,2 | 8,2 | 4,9 |
| 1 % | 5,6 | 11,0 | 6,5 | 5,6 | 11,0 | 6,5 |

| Stadium der Behandlung | Hektolitergewicht | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | untere Knickung | | | obere Knickung | | |
| | 1951 | 1952 | 1953 | 1951 | 1952 | 1953 |
| Bestockung früh | — | — | + 0,8 | — | — | — |
| Beginn des Schossens | – 2,2 | — | – 1,9 | — | — | — |
| Während des Schossens | – 4,6 | – 4,4 | – 2,4 | — | — | — |
| Kurz vor Ährenschieben | — | — | – 7,1 | — | — | + 0,5 |
| Beginn des Ährenschiebens | — | – 5,0 | – 6,6 | — | – 0,3 | – 3,8 |
| Während des Ährenschiebens | – 5,0 | — | — | – 1,4 | — | — |
| Vor der Blüte | – 5,4 | – 6,4 | – 10,0 | – 3,5 | – 3,0 | – 4,0 |
| Während der Blüte | – 8,9 | – 9,9 | – 10,7 | – 8,6 | – 5,3 | – 4,4 |
| Nach der Blüte | — | — | – 13,6 | — | — | – 5,8 |
| Frühe Milchreife | – 8,2 | – 10,2 | – 15,5 | – 13,5 | – 9,3 | – 11,4 |
| Mittlere Milchreife | — | — | – 12,1 | — | — | – 11,2 |
| Späte Milchreife | — | – 2,0 | — | — | – 4,3 | — |
| Frühe bis mittlere Gelbreife | — | — | – 5,2 | — | — | – 2,0 |
| Späte Gelbreife | – 0,9 | – 4,6 | — | + 0,4 | – 1,0 | + 0,3 |
| Grenzdifferenz 5 % | 1,6 | 1.9 | 3,3 | 1,6 | 1,9 | 3,3 |
| 1 % | 2,2 | 2,6 | 4,4 | 2,2 | 2,6 | 4,4 |

*Tabelle 4*

Zusammenstellung der Resultate der Knickversuche bei Petkuser Winterroggen (Normalstroh) 1951—1953.
Mittelwerte der Veränderungen in % gegenüber unbehandelt

| Stadium der Behandlung | Ährengewicht | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | untere Knickung | | | obere Knickung | | |
| | 1951 | 1952 | 1953 | 1951 | 1952 | 1953 |
| Bestockung früh | — | — | + 2,3 | — | — | — |
| Beginn des Schossens | - 35,2 | — | - 11,2 | — | — | — |
| Während des Schossens | - 41,6 | - 39,7 | - 26,1 | — | — | — |
| Kurz vor dem Ährenschieben | — | — | - 42,7 | — | — | + 4,1 |
| Beginn des Ährenschiebens | — | - 46,5 | - 46,1 | — | - 11,7 | - 9,1 |
| Während des Ährenschiebens | - 51,6 | — | — | - 28,2 | — | — |
| Vor der Blüte | - 54,8 | - 57,7 | - 57,2 | - 42,2 | - 59,9 | - 36,3 |
| Während der Blüte | - 51,8 | - 60,9 | - 67,5 | - 52,1 | - 44,4 | - 51,2 |
| Nach der Blüte | — | — | - 65,2 | — | — | - 43,7 |
| Frühe Milchreife | - 35,9 | - 37,3 | - 53,0 | - 44,5 | - 42,4 | - 50,7 |
| Mittlere Milchreife | — | — | - 33,4 | — | — | - 47,4 |
| Späte Milchreife | — | - 7,0 | — | — | - 15,9 | — |
| Frühe bis mittlere Gelbreife | — | — | - 17,3 | — | — | - 13,8 |
| Späte Gelbreife | - 8,1 | + 6,4 | — | + 6,9 | + 1,8 | - 0,5 |
| Grenzdifferenz 5 % | 8,9 | 13,1 | 10,7 | 8,9 | 13,1 | 10,7 |
| 1 % | 12,0 | 17,4 | 14,2 | 12,0 | 17,4 | 14,2 |

| Stadium der Behandlung | Anzahl Ähren | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | untere Knickung | | | obere Knickung | | |
| | 1951 | 1952 | 1953 | 1951 | 1952 | 1952 |
| Bestockung früh | — | — | + 6,3 | — | — | — |
| Beginn des Schossens | + 0,8 | — | + 0,9 | — | — | — |
| Während des Schossens | - 12,8 | - 10,1 | - 3,5 | — | — | — |
| Kurz vor dem Ährenschieben | — | — | - 6,5 | — | — | + 5,5 |
| Beginn des Ährenschiebens | — | - 16,5 | - 10,8 | — | + 2,9 | + 1,9 |
| Während des Ährenschiebens | - 13,4 | — | — | - 10,4 | — | — |
| Vor der Blüte | - 9,1 | - 25,4 | - 19,7 | - 7,8 | - 4,1 | - 3,4 |
| Während der Blüte | - 9,5 | - 20,6 | - 34,5 | - 6,0 | - 8,1 | - 9,4 |
| Nach der Blüte | — | — | - 25,3 | — | — | - 6,1 |
| Frühe Milchreife | - 1,0 | - 4,4 | - 17,6 | - 5,5 | + 0,4 | - 13,1 |
| Mittlere Milchreife | — | — | - 6,4 | — | — | - 9,9 |
| Späte Milchreife | — | + 3,1 | — | — | - 4,4 | — |
| Frühe bis mittlere Gelbreife | — | — | - 8,9 | — | — | - 6,1 |
| Späte Gelbreife | - 7,2 | + 7,4 | — | - 1,4 | 0,0 | - 7,7 |
| Grenzdifferenz 5 % | —* | 13,3 | 11,9 | —* | 13,3 | 11,9 |
| 1 % | —* | 17,7 | 15,8 | —* | 17,7 | 15,8 |

*) Keine gesicherten Unterschiede.

*Soc. „Montecatini"*
*Laboratorio Sperimentale Agrario SIGNA-(Firenze)*

# Patogenesi, riproduzione sperimentale del mal secco da *Deuterophoma tracheiphila* Petri e ricerche sulla formazione di metaboliti tossici in cultura

Pietro Scrivani

*5 Figure*

Il mal secco, già diffuso in tutto il bacino orientale del Mediterraneo (Asia Minore e Grecia), è comparso per la prima volta intorno al 1920 sulle coste orientali della Sicilia, donde in pochi anni si è esteso a tutta l'isola e da questa in seguito è passato sulla penisola italiana sino al Lazio, arrecando dovunque ingentissimi danni agli agrumeti.

Il primo e decisivo contributo alla conoscenza della malattia è stato portato da Petri (1, 2, 3, 4) il quale in una serie di ricerche è riuscito ad identificare in modo indubbio il parassita, attribuendolo ad un genere e specie nuovi: *Deuterophoma tracheiphila,* e studiandone dettagliatamente la biologia. Gli A. A., che contemporaneamente o successivamente a Petri hanno affrontato il problema hanno, conseguito risultati concordanti con lui, estendendo le conoscenze fino a quel momento acquisite. Così Savastano e Fawcett (6), Goidanich e Ruggieri (7, 8, 9, 10), Gassner (11), Sarejanni (12), Baldacci (13, 14), Ciferri (15), Garofalo (16) ed altri.

Gassner in un primo tempo aveva ritenuto che fattori predisponenti essenziali per lo sviluppo della malattia fossero le gelate, le quali avrebbero favorito la penetrazione del parassita; sembra però che in seguito egli si sia ricreduto. Ultimanente Pasinetti (17) ha sostenuto l'inesistenza del *Deuterophoma tracheiphila* Petri, per cui il mal secco avrebbe origine esclusivamente da fattori geoambientali; tale affermazione è stata però controbattuta dalla maggior parte degli studiosi, dato che non risulta basata su dati di fatto positivi.

Dal complesso delle osservazioni effettuate dagli A.A succitati risulta che:

1. Il mal secco è una malattia a carattere di „tracheomicosi", nella quale cioè il patogeno, una volta penetrato nella pianta, si diffonde attraverso i fasci legnosi, invadendoli (a seconda dell'intensità dell'attacco) in parte o per tutta la loro estensione e provoca il disseccamento parziale e perfino totale della pianta ospite.

2. I sintomi si manifestano sempre dall'alto verso il basso secondo il seguente ordine: clorosi fogliare, defogliazione, disseccamento graduale del ramo fino a raggiungere il tronco con conseguente morte della pianta.
3. Non tutti gli agrumi sono ugualmente suscettibili al mal secco: il limone e l'arancio amaro lo sono in particolar modo; in minor misura altre specie; anche nella stessa specie alcune varietà risultano più resistenti, altre meno.
4. Asportando la corteccia di un ramo infetto in modo da mettere a nudo il legno si riscontrano caratteristiche striature longitudinali di color giallo-carota, rosso salmone, interessanti i gruppi di vasi infetti. Da materiale prelevato in corrispondenza di questi punti l'isolamento del patogeno risulta relativamente facile. Talvolta la colorazione del legno infetto assume una tinta grigio-nerastra ed in tal caso corrisponde al tipo di malattia denominato in alcune località della Sicilia „mal nero".
5. Il fungo penetra nell'interno della pianta attraverso gli stomi o ferite della parte aerea, dando origine al tipo di malattia a decorso cronico; può anche però penetrare attraverso le radici e dare origine in questo caso al mal secco a decorso acuto, di solito più raro.
6. Periodi favorevoli all'infezione naturale ed allo sviluppo della malattia sono la primavera e l'autunno, quando le piante sono in piena attività vegetativa.
7. I comuni mezzi di lotta anticrittogamica risultano inefficaci come in tutte le tracheomicosi e pertanto l'opera attuale degli studiosi è rivolta alla ricerca di varietà o porta-innesti resistenti. Come pratica corrente si procede alla potatura delle piante colpite, in modo da asportare la parte infetta per evitare, o per lo meno rallentare, il progredire della malattia, oltre ad altre pratiche culturali (18, 19, 20).

Questo studio, rappresentante un compendio di 4 anni di lavoro (1950—1953), è stato da noi affrontato allo scopo di approfondire maggiormente le conoscenze sulla biologia del patogeno e di mettere a punto metodi di laboratorio e di serra per il saggio di eventuali mezzi di lotta, in base alle seguenti direttrici:

I. Patogenesi e ricerca di un metodo di riproduzione artificiale della malattia.
II. Studio sistematico dei metaboliti del fungo.

### I. Patogenesi e messa a punto di un metodo di riproduzione artificiale del mal secco

La riproduzione artificiale della malattia è stata ottenuta da PETRI (5), SAVASTANO e FAWCETT (6), GASSNER (11), CARRANTE e RUGGIERI (21). I loro metodi consistono in genere nel mettere a contatto del legno, dopo averne inciso le cerchie più esterne, pezzetti di legno infetto o di culture in agar del fungo. PETRI stesso (3) ed anche RUGGIERI (3) hanno tentato di infettare le piante per irrorazione delle foglie con una sospensione acquosa di picnospore ottenendo un quadro incompleto della malattia. GOIDANICH e RUGGIERI

(22) hanno invece adottato il metodo di inoculazione di picnospore nel fusto a mezzo di una siringa ipodermica ottenendo avanzati sintomi della malattia entro un mese, mentre con gli altri metodi il periodo di incubazione si protraeva anche per parecchi mesi.

Non ci risulta che i metodi citati siano stati attuati su di un numero notevole di piante, nè che le prove siano state effettuate in località molto lontane dalle zone agrumicole.

## Parte sperimentale

La ricerca di una tecnica atta a riprodurre la malattia nella nostra serra è stata alquanto laboriosa, poichè era necessario ottenere in un tempo relativamente breve il massimo di attecchimento ed assicurare contemporaneamente la massima riproducibilità.

I primi tentativi, che sono stati effettuati nel 1952 in serra su piante di limone di 3—4 anni di età, seguendo i metodi citati, hanno avuto esito negativo; la causa degl'insuccessi avrebbe potuto essere attribuita all'ambiente completamente diverso da quello naturale, nel quale le prove sono state effettuate, oppure a scarsa virulenza dei ceppi impiegati. Con tutta probabilità invece, tale causa va attribuita a difetto di tecnica, in quanto in seguito si è constatato che il fungo può esplicare la sua azione, causando una sintomatologia non diversa da quella che si riscontra in natura, anche operando in serra.

D'altro canto per gli eventuali saggi fitoterapeutici era necessario poter disporre di un gran numero di piantine il più possibile uniformi ed ugualmente suscettibili al fungo. Ciò è stato realizzato con un vasto allevamento di piantine di arancio amaro, ottenute da seme.

Fin dai primi tentativi sono stati riscontrati sintomi tipici a distanza di due mesi dall' infezione, quando questa è stata praticata attraverso le radici. In seguito è stato possibile ottenere piante affette da mal secco anche per infezione praticata sul fusto.

### Metodi impiegati

#### A. Infezione per via radicale

Piantine di arancio amaro di 10—20 cm di altezza vengono tolte dai vasi, sciacquate in acqua corrente allo scopo di allontanare la terra dalle radici. Queste, dopo una parziale potatura, vengono disinfettate con alcool a 95 ° e successivamente sciacquate con acqua sterile; infine la piantina viene immersa fino al colletto per 24 ore in una sospensione di una cultura di *Deuterophoma tracheiphila* Petri in decotto di carote di 20 giorni di età, previamente omogeneizzata e diluita 1 : 1 con acqua sterile. Dopo questo trattamento le piantine vengono messe in vasi contenenti sabbia pulita e dopo conservazione per 48 ore in ambiente al 100 % di umidità relativa e temperatura di 20° C, incubate in serra a 20—25° C, innaffiandole a seconda del bisogno con soluzione nutritiva. I testimoni vengono sottoposti ad identico trattamento con la differenza che l'immersione dell'apparato radicale viene effettuata in brodo di carote sterile anzichè nella cultura del patogeno.

In qualche caso già dopo 15 giorni, più spesso dopo 20—30 giorni, si sono manifestati i primi sintomi su alcune piantine. Normalmente la sintomatologia è quella tipica riscontrata in natura e descritta dai vari A.A.;

Fig. 1. Piantine di arancio amaro, infettate da 45 giorni per via radicale: a sinistra testimonio, a destra clorosi delle foglie apicali

Fig. 2. Piantine di arancio amaro, infettate da 45 giorni per via radicale, con sintomi di intensità crescente da sinistra verso destra: Testimonio, inizio clorosi, foglie apicali clorotiche, defogliazione

Fig. 3. Piantine di arancio amaro, infettate da 45 giorni sul fusto, con sintomi di intensità crescente da sinistra verso destra: Testimonio, inizio clorosi, foglie apicali clorotiche, defogliazione

più raramente non si è notata alcuna clorosi, mentre le foglie sono appassite o accartocciate (Fig. 1 e 2).

Dall'esame delle piante che presentavano i sintomi di mal secco abbiamo sempre riscontrato che i fasci legnosi erano più o meno intensamente colorati

in rosso-salmone per tutto il loro decorso, dalle radici fino all'apice vegetativo. Nei pressi della zona di infezione erano più intensamente colorati i fasci centrali, mentre verso l'apice quelli periferici. Spesso è stato possibile anche

Fig. 4. Particolare di pianta di arancio amaro, infettata sul fusto da 60 giorni: in primo piano rametto, già defogliato, in via di essiccamento; essiccamento totale dall'apice fino alle prima spina; essiccamento quasi totale fino in basso. In secondo piano un ramo ancora sano

ad un esame a vista riconoscere con una certa esattezza il punto di penetrazione del fungo. È stato ripetutamente isolato con relativa facilità il patogeno dal colletto, dal fusto a varie altezze, dall'apice, dai piccioli e dalla nervatura principale di varie foglie e più difficilmente anche dalle radici.

Fig. 5. Test tossinico germogli di arancio amaro recisi: a sinistra testimoni; a destra germogli immersi in filtrato grezzo (dopo 35 giorni di incubazione) per 24 ore e successivamente in acqua distillata

Talvolta l'isolamento del patogeno è stato effettuato contemporaneamente da tutti i punti surricordati, talaltra è risultato positivo solamente per alcuni punti. Nelle prove più recenti l'isolamento del patogeno è stato effettuato da materiale prelevato di preferenza dall'apice della pianta.

## B. Infezione sulla parte aerea

Nel caso di infezione sul fusto abbiamo adottato il seguente procedimento: Su piantine di arancio amaro di 20—30 cm. di altezza, dopo disinfezione localizzata con alcool, viene praticata, a mezzo di bisturi, un'incisione sul fusto in modo da sollevare un lembo della corteccia. Sul legno così messo a nudo viene depositato un pezzo di una cultura in agar del fungo ed il tutto ricoperto con cotone sterile, imbevuto in acqua sterile e fasciato con leucoplasto. Poi le piante vengono messe per 48 ore in ambiente al 100 % di umidità relativa a 20 ° C e successivamente incubate in serra a 20—25 ° C. I testimoni vengono trattati nello stesso modo, soltanto che sul legno messo a nudo viene depositato un pezzo di agar sterile al posto della cultura fungina.

I primi sintomi si manifestano dopo circa 1 mese; la sintomatologia è quella tipica.

Dall'osservazione del legno infetto è facile constatare che in corrispondenza della zona d'infezione (metà fusto) risultano maggiormente colorati i vasi interni, mentre verso l'apice quelli esterni; al di sotto del punto di infezione i fasci legnosi risultano colorati soltanto per un breve tratto. L'isolamento del patogeno è stato effettuato esclusivamente da materiale prelevato al di sopra del punto d'infezione.

*Tabella 1*

Confronto della virulenza di tre ceppi di *Deuterophoma tracheiphila* Petri su piantine di arancio amaro infettate per via radicale

Data infezione: 19. 1. 1953

| No. pianta | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | I primi sintomi sono comparsi dopo giorni | Morte dopo giorni | Colorazione del legno*) | Isolamento del patogeno**) | Pianta sopravvissuta per giorni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 44 | 363 | DPR | Serra 1952 | | | | | 360 |
| 45 | 363 | DPR | Serra 1952 | 120 | 150 | +++ | — | |
| 46 | 363 | DPR | Serra 1952 | 120 | 210 | ++ | — | |
| 47 | 363 | DPR | Serra 1952 | | | | | 360 |
| 48 | 300 | DPR | Formia 1951 | 30 | 180 | +++ | + | |
| 49 | 300 | DPR | Formia 1951 | 120 | 180 | +++ | + | |
| 50 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 360 |
| 51 | 300 | DPR | Formia 1951 | 120 | 150 | +++ | + | |
| 52 | 302 | DPR | Formia 1951 | | | | | 360 |
| 53 | 302 | DPR | Formia 1951 | | | | | 360 |
| 54 | 302 | DPR | Formia 1951 | | | | | 360 |
| 55 | 302 | DPR | Formia 1951 | | | | | 360 |
| 56 | Testimone | | | | | | | 360 |
| 57 | Testimone | | | | | | | 360 |

*) ++ = mediocre, +++ = intensa.
**) + = positivo, — = negativo.

*Tabella 2*

Confronto della virulenza di tre ceppi, isolati alla fine del 1952, su piantine di arancio amaro infettate per via radicale

Data infezione 30. 1. 1953

| No. pianta | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | I primi sintomi sono comparsi dopo giorni | Morte dopo giorni | Colorazione del legno | Isolamento del patogeno | Pianta sopravvissuta per giorni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 58 | 364 | DPR | Serra 1952 | 90 | 180 | +++ | + | |
| 59 | 364 | DPR | Serra 1952 | 240 | 270 | +++ | + | |
| 60 | 364 | DPR | Serra 1952 | 90 | 150 | +++ | + | |
| 61 | 375 | DPR | Serra 1952 | 90 [1] | | + | + | |
| 62 | 375 | DPR | Serra 1952 | 90 | 120 | ++ | + | |
| 63 | 375 | DPR | Serra 1952 | 90 | 150 | + | + | |
| 64 | 383 | DPR | Palermo 1952 | 30 | | + | + | 360 |
| 65 | 383 | DPR | (mal secco a decorso | 70 | 90 | +++ | + | |
| 66 | 383 | DPR | acuto)[2] | 90 | | + | + | 360 |
| 67 | testimonio | | | | | | | 360 |
| 68 | testimonio | | | | | | | 360 |
| 69 | testimonio | | | | | | | 360 |

[1]) Tutta la pianta è stata estirpata quando era appena iniziato l'essiccamento della parte apicale.

[2]) Isolato da pezzi di rami di limone colorati intensamente in rosso-salmone, ricevuti da Palermo come caso di mal secco a decorso acuto (vedasi a proposito a pag. 94).

*Tabella 3*

Confronto della virulenza di tre ceppi diversi su piantine di arancio amaro infettate sul fusto

Data infezione: 19. 2. 1953

| No. pianta | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | I primi sintomi sono comparsi dopo giorni | Morte dopo giorni | Colorazione del legno | Isolamento del patogeno | Pianta sopravvissuta per giorni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 70 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | 60 | 75 | +++ | + | |
| 71 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | 30 | 45 | +++ | + | |
| 72 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | 60 | 150 | +++ | + | |
| 73 | 364 | DPR | Serra 1952 | 90 | 120 | +++ | + | |
| 74 | 364 | DPR | Serra 1952 | | | | | 330 |
| 75 | 364 | DPR | Serra 1952 | | | | | 330 |
| 76 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 330 |
| 77 | 300 | DPR | Formia 1951 | 60 | 90 | +++ | + | |
| 78 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 330 |
| 79 | testimonio | | | | | | | 330 |
| 80 | testimonio | | | | | | | 330 |

[1]) Vedi nota 2 a Tabella 2.

*Tabella 4*

Confronto della virulenza di 4 ceppi diversi su piantine di arancio amaro infettate per via radicale

Data infezione: 14. 4. 1953

| No. pianta | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | I primi sintomi sono comparsi dopo giorni | Morte dopo giorni | Colorazione del legno | Isolamento del patogeno | Pianta sopravvissuta per giorni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 81 | 300 | DPR | Formia 1951 | 20 | 60 | + | — | |
| 82 | 300 | DPR | Formia 1951 | 20 | 180 | +++ | + | |
| 83 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 240 |
| 84 | 300 | DPR | Formia 1951 | 180[1]) | | + | — | |
| 85 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 240 |
| 86 | 380 | DPR | Palermo 1952[2]) | | | | | 240 |
| 87 | 380 | DPR | Palermo 1952[2]) | | | | | 240 |
| 88 | 380 | DPR | Palermo 1952[2]) | | | | | 240 |
| 89 | 380 | DPR | Palermo 1952[2]) | | | | | 240 |
| 90 | 380 | DPR | Palermo 1952[2]) | | | | | 240 |
| 91 | 383 | DPR | Palermo 1952[2]) | | | | | 240 |
| 92 | 383 | DPR | Palermo 1952[2]) | 20 | 60 | +++ | + | |
| 93 | 383 | DPR | Palermo 1952[2]) | 210 | | + | — | 240 |
| 94 | 383 | DPR | Palermo 1952[2]) | 20 | 60 | +++ | + | |
| 95 | 383 | DPR | Palermo 1952[2]) | 30 | 180 | +++ | + | |
| 96 | 259 | DP | Sicilia 1948 (BALDACCI) | | | | | 240 |
| 97 | 259 | DP | Sicilia 1948 (BALDACCI) | 210[3]) | | — | — | 240 |
| 98 | 259 | DP | Sicilia 1948 (BALDACCI) | 210[3]) | | — | — | 240 |
| 99 | 259 | DP | Sicilia 1948 (BALDACCI) | | | | | 240 |
| 100 | 259 | DP | Sicilia 1948 (BALDACCI) | 210[3]) | | — | — | 240 |
| 101 | testimoni | | | | | | | 240 |
| 102 | testimoni | | | | | — | —[3]) | 240 |
| 103 | testimoni | | | | | — | —[3]) | 240 |
| 104 | testimoni | | | | | — | —[3]) | 240 |
| 105 | testimoni | | | | | — | —[3]) | 240 |

[1]) Tutta la pianta è stata estirpata quando l'apice incominciava ad essiccare.
[2]) Vedi nota 2 Tabella 2.
[3]) Le piante sono state estirpate a distanza di 240 giorni dalla infezione.

Seguendo le due tecniche d'infezione abbiamo confrontato la virulenza di una serie di ceppi di diversa provenienza, alcuni ottenuti per cortesia di BALDACCI*), che qui ringraziamo, altri isolati da noi da materiale infetto ricevuto da Formia, dalla Sicilia ed ottenuto in serra.

*) I ceppi ricevuti da BALDACCI sono i seguenti:
a) „Sicilia" 1948, tipo DP, isolato da GAROFALO nei dintorni di Palermo;
b) „Turchia", tipo R, inviato a BALDACCI da BREMER;
c) „Palestina", tipo DRP, inviato a BALDACCI da REICHERT;
d) „Formia", tipo DPR, isolato da BALDACCI da materiale proveniente da Formia (Roma).

*Tabella 5*

Confronto della virulenza di 4 ceppi, isolati di recente da materiale affetto da mal secco a decorso acuto e di un ceppo isolato nel 1951 su piantine di arancio amaro infettate per via radicale

Data infezione: 6. 8. 1953

| No. pianta | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | I primi sintomi sono comparsi dopo giorni | Morte dopo giorni | Colorazione del legno | Isolamento del patogeno | Pianta sopravvissuta per giorni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 106 | 742 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 107 | 742 | DPR | Palermo 1953[1]) | 40 | 60 | +++ | — | |
| 108 | 742 | DPR | Palermo 1953[1]) | 60 | 70 | +++ | — | |
| 109 | 742 | DPR | Palermo 1953[1]) | 40 | 60 | +++ | + | |
| 110 | 744 | DPR | Palermo 1953[1]) | 40 | 60 | +++ | + | |
| 111 | 744 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 112 | 744 | DPR | Palermo 1953[1]) | 60 | 65 | +++ | + | |
| 113 | 744 | DPR | Palermo 1953[1]) | 55 | 70 | ++ | — | |
| 114 | 746 | DPR | Palermo 1953[1]) | 40 | 60 | +++ | + | |
| 115 | 746 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 116 | 746 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 117 | 746 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 118 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 119 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 40 | 60 | +++ | + | |
| 120 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 121 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | | | | | 150 |
| 122 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 150 |
| 123 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 150 |
| 124 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 150 |
| 125 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | 150 |
| 126 | testimoni | | | | | | | 150 |
| 127 | testimoni | | | | | | | 150 |
| 128 | testimoni | | | | | | | 150 |
| 129 | testimoni | | | | | | | 150 |

[1]) Isolato da materiale ricevuto come un caso di mal secco a decorso acuto, che presentava la tipica pigmentazione grigionerastra del legno (vedasi a proposito a pag. 94).

I ceppi impiegati possono essere distinti in tre tipi a seconda delle loro caratteristiche principali (Baldacci 14):

1. tipo DPR — micelio con aspetto demaziaceo, produttore di picnidi e di pigmento rosso.
2. tipo DP — micelio ad aspetto demaziaceo, produttore di picnidi, incapace di produrre pigmento rosso in qualsiasi substrato.
3. tipo R — (rosso albino) — forte produttore di pigmento rosso, ma incapace di formare picnidi.

Il tipo DPR è quello più comune; il secondo è stato isolato da Petri da materiale proveniente dalla Grecia; successivamente è stato riscontrato anche in Sicilia (Garofalo 16). Come rappresentante del terzo tipo abbiamo

adoperato il ceppo „Turchia" di cui alla nota*); questo ceppo ha rivelato una notevole costanza nel produrre abbondante quantità di pigmento rosso.

Nelle tabelle 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 7 sono riportati i risultati conseguiti in alcune delle prove d'infezione effettuate seguendo i due metodi.

## Discussione ed interpretazione dei risultati

La manifestazione dei sintomi nelle varie prove non si è verificata contemporaneamente per tutte le piantine infettate con lo stesso ceppo, anche quando queste erano molto uniformi; spesso alcune piante si sono ammalate a distanza di oltre un mese l'una dall'altra; più raramente a distanza anche di vari mesi. Le piante testimoni non hanno mai presentato sintomi della malattia, ad eccezione del caso della prova relativa alla tabella n° 6 nella quale due testimoni su quattro sono risultati affetti da mal secco, probabilmente per infezione naturale.

Nelle prove d'infezione effettuate abbiamo prelevato il materiale, dal quale procedere all'isolamento del patogeno, non appena si erano manifestati i primi sintomi o tutt'al più quando la parte superiore del fusto era in via di essiccamento. È noto infatti che l'isolamento del *D. tracheiphila* Petri riesce con maggior facilità quando si operi su materiale ancora verde. Purtroppo certe volte siamo stati costretti a ritardare notevolmente il prelevamento del materiale e a tale causa attribuiamo alcuni degli insuccessi nell'isolamento del patogeno da piante che pur presentavano sintomi caratteristici. Con tutta probabilità se fosse stato possibile insistere nei tentativi, questi avrebbero avuto esito positivo, come del resto abbiamo avuto occasione di constatare più volte.

Dall'esame del decorso dei fasci legnosi infetti, come pure dalle prove di isolamento del patogeno da piante affette da mal secco in diversi stadi, è risultato in modo indubbio che, nel caso in cui l'infezione proviene dal basso, i primi sintomi si manifestano esclusivamente quando il fungo ha invaso l'apice della pianta. Infatti è stato isolato il patogeno da foglie apicali clorotiche in piante, infettate per via radicale, anche quando nessun altro sintomo era visibile.

È interessante notare come il ceppo di tipo DPR abbia mantenuto la sua virulenza, anche se conservato in laboratorio per parecchi anni ed abbia dato origine a sintomi uguali e permesso il reisolamento di ceppi con caratteri identici a quelli, che si ottengono impiegando ceppi di recente isolamento, derivanti sia da materiale infetto con tipica colorazione rosso-salmone o giallo-carota, che da materiale presentante la tipica pigmentazione nerastra del legno [come del resto è stato constatato anche da CARRANTE e RUGGIERI (21)]. Secondo i risultati da noi conseguiti sembrerebbe che i ceppi ottenuti da legno colorato in nero siano più virulenti di quelli provenienti da legno colorato in rosso-salmone; i rispettivi isolamenti però sono stati effettuati in

*Tabella 6* Confronto della virulenza di ceppi diversi su piantine di arancio amaro infettate per via radicale il giorno 27. 8. 1953 ed altre infettate sul fusto il giorno 8. 9. 1953

| No. piante | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | Manifestazioni dopo giorni: primi sintomi | | morte della pianta | | Colorazione del legno | | Isolamento del patogeno | | Piante sopravvissute per giorni: | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Infezione radicale | Infezione sul fusto | Infezione radicale | Infezione sul fusto | Infezione radicale | Infezione sul fusto | Infezione radicale | Infezione sul fusto | Infezione radicale | Infezione sul fusto |
| 130—167 | D 1 | R | Turchia (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 131—168 | D 1 | R | Turchia (Prof. BALDACCI) | 105 | | 120 | | +++ | | — | | | 120 |
| 132—169 | D 1 | R | Turchia (Prof. BALDACCI) | | 30 | | 60 | | ++ | | + | 120 | |
| 133—170 | D 1 | R | Turchia (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 134—171 | D 3 | DPR | Palestina (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 135—172 | D 3 | DPR | Palestina (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 136—173 | D 3 | DPR | Palestina (Prof. BALDACCI) | 90 | 23 | 100 | 30 | +++ | ++ | — | + | | |
| 137—174 | D 3 | DPR | Palestina (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 138—175 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 139—176 | 300 | DPR | Formia 1951 | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 140—177 | 300 | DPR | Formia 1951 | | 105 | | | | ++ | | — | 120 | 120 |
| 141—178 | 300 | DPR | Formia 1951 | 30 | | | | + | | — | | 120 | 120 |
| 142—179 | 343 | DPR | Formia 1951 (Prof. BALDACCI) | | 60 | | 90 | | +++ | | + | 120 | |
| 143—180 | 343 | DPR | Formia 1951 (Prof. BALDACCI) | | 60 | | 90 | | +++ | | + | 120 | |
| 144—181 | 343 | DPR | Formia 1951 (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 145—182 | 343 | DPR | Formia 1951 (Prof. BALDACCI) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 146—183 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | 30 | | 45 | | +++ | | + | | | 120 |
| 147—184 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | 105 | | 120 | | +++ | | + | | | 120 |
| 148—185 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | 105 | | | | (+)[4]) | | — | | 120 | 120 |
| 149—186 | 383 | DPR | Palermo 1952[1]) | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 150—187 | 742 | DPR | Palermo 1953[2]) | 30 | 60 | 60 | 80 | +++ | +++ | + | + | | |
| 151—188 | 742 | DPR | Palermo 1953[2]) | 100 | 45 | 120 | 60 | +++ | +++ | ?[5]) | + | | |
| 152—189 | 742 | DPR | Palermo 1953[2]) | 60 | 75 | 75 | [3]) | + | + | — | — | | |
| 153—190 | 742 | DPR | Palermo 1953[2]) | 75 | 90 | 90 | [3]) | +++ | — | + | — | | 120 |
| 154—191 | 746 | DPR | Palermo 1953[2]) | 105 | | [3]) | | +++ | | + | | | 120 |
| 155—192 | 746 | DPR | Palermo 1953[2]) | 15 | 45 | 20 | 60 | +++ | +++ | + | + | | |
| 156—193 | 746 | DPR | Palermo 1953[2]) | 75 | 75 | 90 | 90 | +++ | +++ | + | + | | |
| 157—194 | 746 | DPR | Palermo 1953[2]) | 75 | 60 | 90 | 70 | +++ | +++ | + | + | | |
| 158—195 | Testimoni | | | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 159—196 | Testimoni | | | | | | | | | | | 120 | 120 |
| 160—197 | Testimoni | | | | 60 | | [3]) | | +++ | | + | 120 | |
| 161—198 | Testimoni | | | | 60 | | [3]) | | +++ | | + | 120 | |

[1]) Vedi nota 2 a Tabella 2. [2]) Vedi nota 1 a Tabella 5. [3]) La pianta è stata estirpata quando la parte superiore del fusto era seccata. [4]) Messa in evidenza solamente con la reazione cromatica vedi pag. 97). [5]) ? isolamento dubbio.

*Tabella 7*

Accertamento della virulenza di un ceppo, isolato da materiale affetto da mal secco a decorso acuto, su piantine di arancio amaro infettate per via radicale

Data infezione: 25. 9. 1953

| No. pianta | No. ceppo | Caratteristiche | Provenienza | I primi sintomi sono comparsi dopo giorni | Morte dopo giorni | Colorazione del legno | Isolamento del patogeno | Pianta sopravvissuta per giorni |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 220 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 39 | 50 | +++ | + | |
| 221 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 32 | 45 | +++ | + | |
| 222 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 39 | 50 | +++ | + | |
| 223 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 39 | 50 | + | + | |
| 224 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 39 | 50 | +++ | + | |
| 225 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 60 | 80 | +++ | + | |
| 226 | 745 | DPR | Palermo 1953[1]) | 60 | 80 | + | ? | |
| 227 | Testimoni | | | | | | | 90 |
| 228 | Testimoni | | | | | | | 90 |
| 229 | Testimoni | | | | | | | 90 |

[1]) Vedi nota 1 a Tabella 5.

epoche diverse e non è detto che su questi risultati possa avere influito la diversa freschezza del materiale. La diversità nella virulenza è stata rilevata nel senso che i ceppi provenienti da legno colorato in nero hanno attecchito su di un maggior numero di piantine rispetto agli altri e non hanno avuto alcuna particolare influenza sul periodo di incubazione. In ambo i casi sono state ottenute anche piantine con malattia a decorso acuto (5—10 giorni), mentre di norma i sintomi si sono verificati dopo due-tre mesi e l'intervallo fra i primi sintomi e l'essiccamento avanzato della pianta non è stato inferiore a 1 mese.

La denominazione mal secco a decorso cronico e a decorso acuto è stata da noi introdotta allo scopo di rendere più chiara la terminologia alquanto confusa adoperata in varie località della Sicilia.

Con il primo termine intendiamo quel tipo di malattia per cui tra la manifestazione dei primi sintomi e l'essiccamento quasi totale della pianta intercorre almeno 1 mese (questo per quanto abbiamo notato in serra; in natura l'intervallo è certamente molto superiore). Per mal secco a decorso acuto intendiamo quel tipo di malattia nel quale la manifestazione dei primi sintomi è seguita da collasso entro pochi giorni. Non spetta a noi stabilire se tale terminologia debba essere riferita anche o esclusivamente all'intervallo di tempo che intercorre tra l'infezione e la manifestazione dei sintomi, tanto più che in natura è difficile, se non impossibile, determinare il momento in cui è avvenuta l'infezione.

Del materiale che abbiamo avuto da Palermo nel 1952 come affetto da mal secco a decorso acuto, il primo è risultato colorato intensamente in rosso-salmone, mentre alla fine dello stesso anno abbiamo ricevuto altro materiale con la tipica colorazione grigio-nerastra, estesa a buona parte delle cerchie legnose più interne, ai bordi della quale si notava una debole colorazione giallo-carota. Da quest'ultimo materiale abbiamo isolato ceppi che sono risultati dotati di maggiore virulenza.

Il ceppo del tipo DP non è risultato virulento nelle poche prove nelle quali è stato impiegato. Non è detto però che esso non possegga una virulenza seppur scarsa e che questa possa esser messa in evidenza in prove ulteriori più accurate.

Sulle piantine in prova, che accusavano sintomi di mal secco, abbiamo spesso notato, dopo la defogliazione più o meno forte, la comparsa di macchie livide sul fusto, in genere all'altezza della inserzione della seconda, terza o quarta foglia, ma in corrispondenza di queste non siamo riusciti a trovare traccia di picnidi. Può darsi che nelle condizioni nelle quali si è operato il *Deuterophoma tracheiphila* Petri non sia capace di formare picnidi in vivo. Dopo la comparsa delle macchie livide si è iniziato l'essiccamento della parte apicale del fusto.

Dalle piante infettate con ceppi dei tipi DPR ed R, sia per via radicale che sul fusto, sono stati reisolati ceppi con caratteristiche variabili (micelio biancastro e picnidi; micelio demaziaceo, pigmento rosso e picnidi; micelio uniformemente bruno, pigmento rosso e picnidi; micelio uniformemente rosso e picnidi), ma in ogni caso indipendentemente dalle caratteristiche dei ceppi impiegati per l'infezione.

La riscontrata variabilità delle caratteristiche culturali dei ceppi impiegati ci ha indotto ad effettuare una serie di osservazioni allo scopo di chiarire per quanto possibile gli aspetti del fenomeno. Dal complesso delle osservazioni effettuate è risultato quanto segue:

1. Il fungo allevato in laboratorio manifesta una grande variabilità di caratteri senza seguire un andamento costante, a prescindere dai terreni culturali impiegati. Da una cultura, ad esempio, a caratteri misti (DPR) si possono ottenere in successivi passaggi culture a micelio puramente biancastro o puramente bruno e successivamente (anche se i passaggi vengano effettuati prelevando materiale con una sola delle caratteristiche) si può ritornare all'improvviso ai caratteri del ceppo primitivo. Nel caso in cui si parta da un ceppo del tipo rosso-albino (R) tale carattere si mantiene in tutti i successivi passaggi, anche variando la composizione dei terreni culturali; il micelio ha assunto tutt'al più in qualche passaggio un aspetto biancastro per riprendere in seguito l'abbondante produzione di pigmento rosso.
2. I ceppi comuni a caratterie misti, conservati in laboratorio, difficilmente producono picnidi; di norma quando questi si formano non arrivano a maturazione. Questo fenomeno si verifica anche se le culture vengono

effettuate su terreni agarizzati aggiunti di un pezzetto di ramo di limone.

3. I ceppi isolati di fresco da materiale infetto di qualsiasi provenienza formano con gran facilità picnidi che giungono a maturazione; nei successivi passaggi tale facoltà viene presto però annullata.
4. In concordanza a quanto riportato da vari A.A., abbiamo constatato che la produzione di pigmento rosso è fortemente esaltata in prossimità di germi inquinanti.

**II. Studio sistematico dei metaboliti tossici del *Deuterophoma tracheiphila*, Petri**

Su questo argomento scarse sono le notizie bibliografiche. PETRI (5) nelle sue ricerche ha effettuato una serie di osservazioni relative al metabolismo del fungo sia per quanto si riferisce al pigmento rosso, sia per altre sostanze elaborate. Egli ha inoltre effettuato saggi preliminari allo scopo di valutare una eventuale azione tossica sulla pianta per opera di culture del patogeno con esito negativo.

Di successive ricerche specifiche non abbiamo notizia, ad eccezione di quelle di BISCEGLIE (23) e di ORSHANSKAJA (24). I risultati ottenuti da quest'ultima sono stati superati dai nostri studi per quanto riguarda il pigmento rosso (26, 27) e dal presente lavoro per ciò che concerne i metaboliti tossici dei liquidi culturali.

Parte sperimentale

Questa branca di studio è stata da noi affrontata allo scopo di mettere in evidenza se il fungo era capace di elaborare principi tossici, ai quali dovesse essere attribuita una azione patogenica con riferimento ad alcuni sintomi (appassimento).

Metodi impiegati —

Per la valutazione dell'eventuale tossicità dei liquidi metabolici abbiamo adottato i seguenti metodi:

1. test germogli recisi di pomodoro;
2. test germogli recisi di limone od arancio amaro;
3. test foglie recise di limone;
4. test germogli apicali di limone od arancio amaro non staccati dalla pianta.

Per i primi tre è stata seguita la tecnica di GÄUMANN e coll. (25), nel senso cioè che i germogli recisi sono stati immersi in provette contenenti il liquido in esame a diverse diluizioni in ambiente ad illuminazione, temperatura ed umidità relativa costanti, procedendo dopo un periodo prefissato al rilevamento dei sintomi. Per il quarto test il liquido metabolico è stato

somministrato per assorbimento attraverso un filo di cotone infilato alla base del germoglio (test di Roach). Non abbiamo preso in considerazione il test su culture di tessuti (Bertossi e Capozzi 29), in quanto esulava dai nostri scopi.

In un primo tempo lo studio è stato limitato alla produzione di un certo quantitativo di miceli essiccati prodotti dal ceppo del tipo R, dai quali Quilico e coll. (26) sono riusciti ad isolare ed identificare i due componenti del pigmento stesso. La identificazione del pigmento ha in seguito permesso a Bazzi e coll. (27) di mettere a punto un metodo diagnostico rapido per il riconoscimento del decorso del fungo entro la pianta ospite*).

È sorto il dubbio che tale pigmento potesse esplicare un'azione tossica verso l'ospite; le prove all'uopo effettuate non hanno permesso di confermare o meno questa supposizione, in conseguenza del fatto che i due pigmenti sono solubili solamente in ammoniaca concentrata ed in minor misura in alcool etilico. Il saggio pertanto della tossicità di soluzioni di detti pigmenti ai tests summenzionati non ha dato alcun risultato per la tossicità intrinseca dei solventi adoperati. Si è tentato allora di saggiare la eventuale tossicità di tali prodotti deponendone un certo quantitativo entro una ferita praticata sul fusto di piantine di arancio amaro. Queste però hanno continuato a svilupparsi senza mostrare alcuna reazione al trattamento.

A nostro avviso i pigmenti rossi non dovrebbero manifestare alcuna particolare azione tossica, in quanto all'osservazione dei tessuti invasi dal fungo i pigmenti stessi risultano in massima parte depositati all'esterno delle ife sotto forma cristallina e, data la loro alta insolubilità, dubitiamo possano essere traslocati anche di poco.

Abbiamo in seguito constatato che i metaboliti tossici passano in massima parte in soluzione e solamente in piccole quantità rimangono ad impregnare i miceli.

Fino dal 1950 avevamo constatato che un filtrato grezzo, ottenuto da decotto di patate glucosato seminato con un ceppo di *D. tracheiphila* Petri di oltre due mesi di età, aveva provocato appassimento di germogli recisi di pomodoro e di limone. Successivamente il fungo è stato allevato in serie su liquido di Czapek-Dox modificato. I filtrati grezzi ottenuti con questa tecnica sono risultati capaci di produrre avvizzimento ai tests 1—3 e 4. Se però i suddetti filtrati venivano diluiti in rapporto superiore ad 1 a 1 non risultavano più tossici verso i tests summenzionati.

È stata quindi nostra preoccupazione trovare un mezzo nutritivo nel quale il fungo potesse produrre metaboliti tossici in quantità meno esigua e comunque tali da permettere uno studio orientativo sulla loro costituzione.

Le prove condotte all'uopo sono state numerose e sono stati presi in esame i diversi componenti il liquido nutritivo. Si è provato così a variare la sorgente zuccherina e sono stati ottenuti migliori risultati con il glucosio

*) Questo metodo è stato applicato di norma nelle prove di infezione condotte in serra, con esito positivo.

al 2 %. Delle varie sostanze azotate esaminate la migliore è risultata il nitrato sodico. Solamente il ceppo tipo DP ha dato maggior produzione di principi tossici in assenza di sali di ferro: gli altri tipi sono risultati indifferenti.

Un notevole progresso è stato conseguito quando al liquido di CZAPEK-DOX è stata aggiunta una certa percentuale di estratto di mais (corn steep liquor), con caratteristiche simili a quelle del prodotto impiegato per incrementare la produzione della Penicillina. In questo caso il metabolismo del fungo è risultato accelerato. Mentre di norma il patogeno ricopre con il suo micelio tutta la superficie del liquido in non meno di 15 giorni, in queste condizioni già dopo una settimana il micelio era completamente sviluppato, il glucosio totalmente consumato ed il filtrato greggio risultava tossico verso i tests adottati anche alla diluizione di 1 a 3.

Il liquido culturale da noi adottato ha la seguente composizione:

| | | |
|---|---|---|
| potassio cloruro | gr. | 0,5 |
| potassio fosfato bibasico | „ | 1,0 |
| magnesio solfato | „ | 0,5 |
| sodio nitrato | „ | 2,0 |
| ferro solfato ferroso | „ | 0,01 |
| glucosio | „ | 20,0 |
| estratto di mais | cc | 90,0 |
| acqua distillata | fino a 1000 cc. | |

In tutte le prove i filtrati grezzi così ottenuti hanno manifestato sempre una tossicità spiccata verso il test 1 e con manifestazioni più lente anche verso il test 2 (Fig. 5).

A questo proposito dobbiamo ricordare che i germogli di limone e di arancio amaro sono meno sensibili e pertanto abbiamo dovuto di preferenza ricorrere in tutte le serie di valutazione del potere tossico dei liquidi in esame al test pomodoro altamente sensibile, sebbene aspecifico (cioè effettuato su piante non colpite in natura).

Il periodo di incubazione da noi preso in considerazione è stato per quanto possibile contenuto in limiti alquanto ristretti (20—35 giorni in media), solamente in casi particolari alcune culture sono state incubate anche per quattro o cinque mesi. Abbiamo constatato che prolungando il periodo di incubazione i filtrati tendono a risultare più tossici, ma riteniamo che sia preferibile per una ricerca sui probabili costituenti dei metaboliti tossici stessi poter disporre di filtrati alquanto giovani, anzichè di quelli invecchiati. È probabile infatti che nel processo di invecchiamento si verifichino trasformazioni che mascherano o alterano i metaboliti che ci interessano.

Sui filtrati grezzi ottenuti con questa tecnica abbiamo effettuato alcune prove preliminari per vedere se era possibile procedere ad una purificazione dei filtrati stessi.

Seguendo lo schema adottato da DIMOND e coll. (28) a proposito dei principi tossici della *Cerastomella ulmi* (Schwarz) Buis., abbiamo seguito il

seguente procedimento: dopo il periodo di incubazione prefissato il liquido sottostante ai miceli è stato filtrato attraverso imbuto di Büchner. Il filtrato grezzo così ottenuto è stato diviso in due parti: una destinata alla determinazione del tenore zuccherino, alla misura del pH e al saggio tossinico, l'altra parte è stata concentrata nel vuoto sino ad un decimo del suo volume originario. Dopo filtrazione è stata trattata con alcool a 70 ° agitandola frequentemente; successivamente è stata centrifugata a 4000 giri al minuto per separare tutto il precipitato insolubile formatosi dal liquido sovrastante, che è stato raccolto a parte. Il precipitato è stato lavato più volte con alcool a 70 ° ed infine ripreso con acqua distillata riportandolo ad un volume corrispondente a quello iniziale. Il liquido sovrastante al precipitato (contenente la frazione solubile in alcool) è stato messo ad evaporare sotto vuoto allo scopo di eliminare tutte le tracce di alcool ed infine riportato al volume iniziale con acqua distillata.

Operando in questo modo abbiamo constatato che le frazioni tossiche sono solubili in alcool; in un primo momento anche il precipitato insolubile aveva manifestato una certa tossicità; ma ad un esame più accurato tale tossicità è risultata essere dovuta a tracce della frazione solubile incorporate nel precipitato stesso (Tabelle 8 e 11).

*Tabella 8*

Saggio tossinico dei metaboliti formati dopo 34 giorni di incubazione in un liquido completo, seminato con ceppo DPR il 13. 1. 1953

| | Rapporto fra i volumi del liquido iniziale e di quello impiegato | Tossicità al test pomodoro[1]) |
|---|---|---|
| 1. Filtrato grezzo tal quale ..... | 0,25 | ++++ |
| 2. c. s. dopo ultrafiltrazione ..... | 0,25 | ++++ |
| 3. c. s.: frazione solubile in alcool ..... | 2 | +++++ |
| 4. c. s.: frazione insolubile in alcool ..... | 6 | ++ |
| 5. Testimoni con acqua distillata ..... | | 0 |

[1]) +++++ = tossicità fortissima,
++++ = tossicità forte,
++ = tossicità media.

In successivi saggi abbiamo provato a confrontare la tossicità dei filtrati grezzi con quella dei liquidi che potevano essere ottenuti dalla spremitura dei miceli a circa 100 atm. (A tale pressione viene ricuperato solamente il liquido che impregna i miceli e non il succo delle ife.) È risultato che questo liquido ha una tossicità debole in confronto a quella del filtrato grezzo; si deve perciò concludere che la massima parte delle frazioni tossiche passi in soluzione (Tabella 10).

In altre prove il filtrato grezzo è stato defecato con acetato basico di piombo e successivamente riportato al valore del pH primitivo per aggiunta

*Tabella 9*

Saggio tossinico dei metaboliti formati dopo 104 giorni di incubazione in un liquido culturale completo, seminato con ceppo DPR il giorno 4. 9. 1952

| | Rapporto fra i volumi del liquido iniziale e di quello impiegato | Tossicità ai tests: 1. pomodoro[1]) | 2. limone[1]) |
|---|---|---|---|
| 1. Filtrato grezzo tal quale .. | 1 | ++++ | ++++ |
| 2. c. s.: dopo defecazione con acetato di piombo ..... | 1 | ++++ | ++++ |
| 3. c. s.: concentrato a 1/10 del volume e poi riportato al volume iniziale ..... | 1 | +++ | ++++[2]) |
| 4. c. s.: frazione solubile in alcool ..... | 1 | +++ | ++++[2]) |
| 5. c. s.: frazione insolubile in alcool ..... | 1 | + | ++ |
| 6. Testimoni con liquido culturale completo non seminato, defecato con acetato basico di Pb ..... | 1 | 0 | 0 |
| 7. Testimonio con liquido culturale completo non seminato ..... | 1 | + | + |
| 8. Testimonio con acqua distillata ..... | | 0 | 0 |

[1]) +++ = tossicità discreta, + = tossicità debole.
[2]) I germogli dopo un periodo di appassimento si sono completamente defogliati.

*Tabella 10*

Saggio tossinico dei metaboliti formati dopo 26 giorni di incubazione in un liquido culturale completo, seminato il 4. 2. 1953 con ceppo DPR

| | Rapporto fra i volumi del liquido iniziale e di quello impiegato | Tossicità al test pomodoro[1]) |
|---|---|---|
| 1. Filtrato grezzo tal quale ..... | 0,25 | +++ |
| 2. Liquido ottenuto dalla pressatura dei miceli a 100 atm. ..... | 0,25 | + |
| 3. Filtrato grezzo dopo concentrazione nel vuoto a 1/10 del volume e ridiluito al volume iniziale ..... | 1 | ++++ |
| 4. Filtrato grezzo: frazione solubile in alcool ..... | 1 | ++++ |
| 5. Filtrato grezzo: frazione insolubile in alcool ..... | 1 | (+) |
| 6. Distillato raccolto durante la concentrazione di 3. ..... | 1 | 0 |
| 7. Precipitato raccolto durante la concentrazione di 3..... | 1 | 0 |
| 8. Testimonio in acqua distillata ..... | | 0 |

[1]) (+) = tossicità debolissima.

di solfato sodico. Una purificazione di tale sorta si è dimostrata conveniente, poichè in tal modo la tossicità del liquido è risultata più netta, mentre con la stessa operazione effettuata su liquido culturale sterile si è ottenuto un liquido che non ha dato alcun sintomo (Tabella 9). E' stato constatato che la quantità di acetato basico di piombo non deve superare l'8 % del volume del filtrato grezzo, altrimenti la tossicità decresce.

Successivamente altri filtrati grezzi sono stati sottoposti ad ultra-filtrazione attraverso collodio senza che la tossicità dei liquidi venisse alterata (Tabella 8).

*Tabella 11*

Saggio tossinico dei metaboliti formati dopo 40 giorni di incubazione in un liquido culturale completo seminato il 5. 3. 1953 con ceppo DPR

| | Rapporto fra i volumi del liquido iniziale e di quello impiegato | Tossicità al test pomodoro |
|---|---|---|
| 1. Filtrato grezzo tal quale ..... | 0,25 | ++++ |
| | 0,125 | +++ |
| 2. c. s.: dopo concentrazione a 1/10 del volume e ridiluito con acqua distillata .. | 1 | ++++ |
| | 0,5 | +++ |
| 3. c. s.: frazione solubile in alcool ..... | 1 | ++++ |
| | 0,5 | +++ |
| 4. c. s.: frazione insolubile in alcool ..... | 1 | (+) |
| | 0,5 | 0 |
| 5. Testimonio in acqua distillata ..... | | 0 |

È stato infine constatato che le frazioni tossiche presentano una certa termostabilità a 100 ° C, sono invece instabili ad una prolungata conservazione anche se effettuata a + 2 ° + 5 ° C e probabilmente sono insolubili in etere etilico.

Le ricerche in questo campo vengono proseguite allo scopo di giungere ad una identificazione dei metaboliti tossici.

## Discussione ed interpretazione dei risultati

Da quanto è stato riscontrato nelle ricerche relative ai metaboliti del *Deuterophoma tracheiphila* Petri, si deve desumere che effettivamente il fungo è capace di produrre in cultura liquida dei principi tossici, attivi al test aspecifico „germogli di pomodoro", come pure nei riguardi dei tests specifici „germogli di limone o di arancio amaro". Il pigmento rosso invece non sembra possa esercitare alcuna azione tossica verso la pianta ospite.

In varie prove il saggio tossinico è stato effettuato contemporaneamente ai due tests, ma mentre nel caso dei pomodori i sintomi erano rilevabili entro 24—48 ore (talvolta anche meno), nel caso del limone era necessario attendere

alcuni giorni prima che essi si manifestassero. Per impedire che i filtrati potessero produrre sintomi di appassimento in seguito a prodotti di degradazione, dovuti a fermentazioni per germi inquinanti, i germogli di limone sono stati immersi per 24 ore nei filtrati stessi e quindi trasferiti in acqua distillata per tutto il periodo di osservazione. In queste condizioni i testimoni, sia quelli immersi sempre in acqua distillata, che quelli immersi preventivamente nel liquido culturale sterile e poi in acqua, si sono mantenuti integri per almeno 7 giorni, mentre quelli immersi nei filtrati grezzi per 24 ore e poi in acqua hanno manifestato sintomi spiccati.

Le frazioni tossiche, ottenute in prove preliminari di purificazione, sono risultate avere un'azione più netta nei confronti dei tests specifici, per quanto questi manifestassero sintomi in un periodo più lungo. È stato infatti notato che per effetto delle frazioni saggiate i germogli recisi di limone presentano oltre ad uno spiccato appassimento, un imbrunimento della nervatura mediana delle foglie e successivamente si defogliano. Talvolta è stata riscontrata la comparsa di macchie necrotiche sulle lamine fogliari.

Al test pomodoro invece i sintomi si riducono ad un avvizzimento più o meno forte del germoglio (foglie, piccioli e fusto) accompagnato talvolta da macchie necrotiche sulle lamine fogliari. È da notare inoltre che specialmente al test pomodoro, molto raramente ai tests specifici, i liquidi culturali non seminati, adoperati come testimoni, hanno provocato un debole arricciamento marginale delle lamine fogliari dei germogli.

Nel caso del „test pomodoro" la manifestazione dei sintomi per opera dei filtrati grezzi è avvenuta dopo 24—48 ore al massimo, mentre in quello dei liquidi testimoni i germogli hanno accusato sintomi con notevole ritardo. A diluizioni superiori a 1 : 1 i germogli dei liquidi testimoni sono rimasti intatti, mentre quelli dei filtrati grezzi hanno mostrato sintomi molto marcati. Gli altri testimoni, immersi in acqua distillata, sono rimasti integri per parecchi giorni.

Vogliamo inoltre ricordare che sono stati presi da noi in considerazione solamente i sintomi molto vistosi che hanno portato in tempo più o meno breve all'appassimento completo del germoglio, cosicché le diluizioni risultanti attive hanno valori relativamente bassi (1 a 3, 1 a 7). Altri A. A. invece, operando su altri patogeni con lo stesso test ed utilizzando una gamma di sintomi più ampia, hanno ottenuto indicazioni tossiche con diluizioni sensibilmente maggiori.

Nelle prove di purificazione delle frazioni tossiche, in genere, una parte di esse è andata distrutta, per quanto si sia cercato di operare nelle condizioni più favorevoli.

## Conclusioni generali

Dal complesso dei risultati conseguiti nelle ricerche relative alla messa a punto di metodi di infezione artificiale, come pure nello studio sul metabolismo del *Deuterophoma tracheiphila* Petri, si può concludere che:

1. In serra può essere applicata con successo la tecnica di riproduzione artificiale del mal secco su giovani piantine di arancio amaro. Nelle numerose prove effettuate a notevole distanza dalla più vicina zona ove alligna il mal secco, su complessivamente circa 130 piantine di arancio amaro, infettate impiegando ceppi di diversa provenienza ed isolati di recente, oppure da tempo, e di diversa virulenza, sono stati ottenuti complessivamente oltre 60 casi di mal secco; di 27 piante testimoni (trattate in modo identico a quelle infettate, ma con materiale sterile) solamente 2 sono risultate affette da mal secco; le altre non hanno mai mostrato sintomi di sorta.

   Nelle ultime prove, con l'affinamento dei metodi adottati ed impiegando ceppi di particolare virulenza, si sono ottenute alte percentuali di attecchimento (fino al 100 %). Risulta così dimostrato ancora una volta ed in modo inoppugnabile che il *Deuterophoma tracheiphila* Petri è l'agente patogeno responsabile del mal secco. Il poter disporre di metodi di infezione che diano alte percentuali di attecchimento è base indispensabile per intraprendere una ricerca razionale nel campo della terapia.

2. La manifestazione dei sintomi può essere repentina o lenta nel tempo, indipendentemente dai ceppi impiegati e dal punto nel quale è stata praticata l'infezione. Probabilmente vari fattori concorrono ad influire sull'attecchimento del patogeno e sul decorso delle manifestazioni. Riteniamo che il caso di mal secco a decorso acuto sia dipendente in principal modo dalla suscettibilità dell'ospite. È da tener presente che quando l'infezione proviene dal basso, la pianta incomincia a mostrar sintomi di mal secco solo quando il patogeno ha raggiunto l'apice. Questo può verificarsi anche in pochi giorni. È probabile che in queste condizioni possano essere in natura più frequenti i casi di mal secco a decorso acuto dato che la pianta è già tutta invasa dal fungo.

3. Adoperando ceppi provenienti da materiale affetto da mal secco a decorso acuto e presentante anche la colorazione grigio-nerastra del legno, è stata ottenuta una maggior percentuale di attecchimento rispetto a quella conseguita con altri ceppi di provenienza diversa. Questi risultati abbisognano però di ulteriore conferma, poichè per motivi contingenti non è stato possibile effettuare il confronto su ceppi isolati nello stesso tempo e mantenuti nelle stesse condizioni in allevamento artificiale.

4. Dei ceppi esaminati tutti sono risultati più o meno virulenti anche se conservati da anni in laboratorio, ad eccezione di un ceppo del tipo DP, incapace di produrre pigmento rosso.

5. È stata constatata una forte variabilità di caratteri nelle culture del fungo allevato in laboratorio. È risultato costante invece il ceppo del tipo R (forte produttore di pigmento rosso). Picnidi si formano con facilità in laboratorio da ceppi isolati di fresco da materiale infetto di

qualsiasi provenienza; nei successivi passaggi tale facoltà però si elimina. Per i ceppi, conservati da tempo in laboratorio, la formazione di picnidi è molto rara, anche se i passaggi sono effettuati su terreni culturali contenenti pezzi di rami di limone; i picnidi che eventualmente vengono prodotti giungono difficilmente a maturazione.

6. Il pigmento rosso, del quale è stata identificata la costituzione chimica, non risulta nelle prove fatte manifestare alcuna azione tossica verso la pianta ospite.

7. Il patogeno produce in cultura liquida metaboliti tossici sia verso tests aspecifici che specifici. In prove preliminari è stato constatato che le frazioni tossiche possono essere parzialmente purificate per defecazione dei filtrati grezzi con acetato basico di piombo, sono solubili in alcool, probabilmente insolubili in etere, resistenti alle ultrafiltrazione, alquanto termostabili, ma si inattivano se conservate a lungo anche a basse temperature. Le ricerche in questo campo proseguono allo scopo di giungere alla loro identificazione.

Ringrazio il Prof. Dott. ELIO BALDACCI, Direttore dell'Istituto di Patologia Vegetale dell'Università di Milano, al cui interessamento, consiglio e guida devo l'effettuazione di questo lavoro, e il Prof. Dott. G. SPERONI, che diresse il Laboratorio durante lo svolgimento di una parte di queste ricerche.

## Riassunto

Da ricerche effettuate in laboratorio ed in serra sul mal secco degli agrumi sono stati ottenuti i seguenti risultati:

Impiegando metodi di infezione per via radicale e sul fusto di giovani piantine di arancio amaro è stata confrontata la virulenza di una serie di ceppi di *Deuterophoma tracheiphila* Petri di origine diversa ed isolati in differenti periodi. Da complessivamente circa 130 piantine infettate sono stati ottenuti oltre 60 casi di mal secco, mentre solamente 2 di 27 piante testimoni sono risultate affette dalla malattia (le altre sono risultate immuni per un lungo periodo). Con il perfezionamento dei metodi adottati e l'impiego di ceppi di particolare virulenza sono state ottenute alte percentuali di attecchimento (fino al 100 %).

I sintomi possono manifestarsi più o meno rapidamente, a prescindere dalle caratteristiche dei ceppi impiegati per l'infezione e dal posto dove questa è stata praticata. Quando l'infezione proviene dal basso, la pianta ospite incomincia a manifestare segni di sofferenza soltanto quando il patogeno ha raggiunto l'apice della pianta.

Dalle piante infettate sono stati isolati ceppi con caratteristiche diverse, indipendentemente da quelle dei ceppi impiegati per l'infezione.

Quasi tutti i ceppi essaminati sono risultati più o meno virulenti, eccetto uno del tipo DP, isolato in Sicilia ed incapace di formare pigmento rosso. Il pigmento rosso, del quale è stata identificata la costituzione chimica, non sembra, dai saggi effettuati, esercitare alcuna influenza tossica sulla pianta ospite.

È stato dimostrato che il fungo è capace di produrre in cultura liquida metaboliti tossici sia nei riguardi del test aspecifico ma sensibile „pomodoro" che nei confronti dei tests specifici ma meno sensibili „limone ed arancio amaro".

È stata fissata la composizione del liquido culturale, atta alla migliore produzione di metaboliti tossici. Da filtrati grezzi è stata ottenuta una frazione tossica, solubile in etanolo, probabilmente insolubile in etere etilico, provvista di una certa termostabilità, resistente all'ultrafiltrazione, ma instabile ad una lunga conservazione a basse temperature (+ 2° — + 5° C).

**Zusammenfassung**

Im Laboratorium und im Gewächshaus durchgeführte Untersuchungen über die „mal-secco"-Krankheit der Citrus-Arten ergaben die folgenden Ergebnisse:

Durch Infektion der Wurzeln oder des Stammes junger Pflanzen von bitteren Orangen wurde eine Anzahl Stämme von *Deutorophoma tracheiphila* Petri, die an verschiedenen Orten und zu verschiedenen Zeiten isoliert worden waren, auf ihre Virulenz geprüft. Von insgesamt 130 infizierten Pflanzen erkrankten mehr als 60 am „mal secco"; 2 von 27 Kontrollpflanzen zeigten ebenfalls Symptome der Krankheit, die anderen blieben gesund. Durch Verbesserung der Methoden und Verwendung besonders virulenter Stämme konnte der Prozentsatz gelungener Infektionen bis auf 100 % gesteigert werden.

Die Krankheitssymptome können (unabhängig von dem verwendeten Pilzstamm und von der Lage der Infektionsstelle) schnell oder langsam auftreten. Wenn sich der Erreger von unten nach oben ausbreitet, treten die ersten Symptome erst auf, wenn er den Wipfel der Wirtspflanze erreicht hat.

Aus infizierten Pflanzen lassen sich verschiedene Stämme isolieren, die in ihren Merkmalen voneinander abweichen, und zwar unabhängig von den Merkmalen des Stammes, der für die Infektion verwendet wurde.

Alle Stämme erwiesen sich mehr oder weniger virulent mit Ausnahme des Typus DP, der aus Sizilien isoliert wurde und kein rotes Pigment bildet.

Das rote Pigment, dessen chemische Konstitution aufgeklärt werden konnte, scheint nach diesen Versuchen keine toxische Wirkung auf die Pflanze auszuüben.

In Kulturen des Pilzes auf Nährlösungen konnten Stoffwechselprodukte nachgewiesen werden, die auf Tomaten (empfindlicher, aber unspezifischer Test), auf Zitronen und bittere Orangen (spezifischer, aber weniger empfindlicher Test) giftig wirken. Die für die Toxinproduktion günstigste Zusammensetzung der Nährlösung wurde ermittelt. Eine aus rohen Kulturfiltraten gewonnene toxische Fraktion ist in Alkohol löslich, in Äther wahrscheinlich unlöslich, bis zu einem gewissen Grad thermostabil und erträgt Ultrafiltration, wird aber bei längerer Aufbewahrung bei + 2 bis + 5 ° C desaktiviert.

**Summary**

Researches on the "mal secco" disease of citrus plants in the laboratory and the greenhouse lead to the following results.

The virulence of several strains of *Deuterophoma tracheiphila* Petri isolated from different localities and at different times, was compared by inoculations of young plants of bitter orange through the roots and the stem. More than 60 cases of "mal secco" were obtained with about 130 inoculated plants; 2 of 27 test plants became diseased, the others remained healthy.

With improved methods and especially virulent strains up to 100 % diseased plants were obtained. Independently from the strains used and the way of infection, the disease symptoms may appear more or less rapidly. If the fungus grows upward, the first symptoms appear only when the pathogen reaches the top. From infected plants strains may be reisolated with different characteristics (independently from those of the strains used for the infection).

All the strains appeared more or less virulent but one, the type DP, which is unable to form red pigment.

The chemical constitution of the red pigment has been identified; it has no toxic effect on the host plant.

It was found that the fungus produces in liquid cultures some metabolites which are toxic against tomato seedlings (used as sensitive but unspecific test) and against lemon and bitter orange seedlings (used as a specific but less sensitive test). The best nutrient solution for toxin production was established.

From culture filtrates a toxic fraction was obtained which is soluble in alcohol, probably insoluble in ether, thermostable to a certain degree and resistant to ultrafiltration but inactivated after a long storage at + 2 to + 5 ° C.

## Bibliografia


1. Petri, L.: Sulla posizione sistematica del fungo parassita delle piante di limone affette da mal secco. Boll. Staz. Pat. Veg. Roma **9**, n. s. 393—396, 1929.
2. — —: Lo stato attuale delle ricerche sul mal secco dei limoni. Ibidem **10**, n. s. 63—106, 1930.
3. — —: Ulteriori ricerche sulla morfologia, biologia e parassitismo della *Deuterophoma tracheiphila*. Ibidem **10**, n. s. 358—359, 1930.
4. — —: Nuove osservazioni sulla biologia della *D. tracheiphila*. Ibidem **10**, n. s. 437—447, 1930.
5. — —: La riproduzione sperimentale del mal secco dei limoni. Rend. Accad. Naz. Lincei XI, **6**, 2, 146—149, 1939.
6. Savastano, G., Fawcett, H. S.: Ricerche sperimentali sul decorso patologico del mal secco nel limone. Ann. R. Staz. Sper. Agrum. Fruttic. Acireale **11**, 1—37, 1931.
7. Goidanich, G., Ruggieri, G.: Recenti osservazioni sulla biologica della *Deuterophoma tracheiphila* Petri e considerazioni sulla eziologica del mal secco degli agrumi. Rend. Acc. Naz. Lincei, serie VIII, **3**, 395—402, 1947.
8. — —, — —: Aspetti e problemi del mal secco degli agrumi. Humus IV, **6**, 22—25, 1948.
9. — —, — —: Sul mal secco degli agrumi. Humus IV, **11**, 24, 1948.
10. — —, — —: Il mal secco degli agrumi. Giorn. Agricoltura **63**, 3, 21—22, 1953.
11. Gassner, G.: Untersuchungen über das mal secco oder Kurutan der Limonbäume. Phytop. Z. **13**, 1—90, 1940.
12. Sarejanni, A.: Le mal secco en Grêce. Ann. Inst. Pytopath. Benaki **1**, 61—66, 1935.
13. Baldacci, E., Garofalo, E.: Conoscenze e ricerche sul mal secco degli agrumi. Humus IV, **4**, 21—24, 1948.
14. — —: Caratteri culturali delle razze di *Bakerophoma tracheiphila*. Notiz. Mal. Piante **9**, 27—32, 1950.
15. Ciferri, R.: La posizione sistematica del fungo del mal secco del limone (*Bakerophoma tracheiphila*). Atti Ist. Bot. Pavia. Serie 5, **5**, 307—309, 1946.
16. Garofalo, F.: Sul ceppo non cromogeno di *Bakerophoma tracheiphila* isolato dagli agrumi della Sicilia. Natur. Sicil. Serie III, **2**, 29—33, 1948.
17. Pasinetti, L.: Sulle vere cause determinanti il mal secco degli agrumi e su nuovi orientamenti terapeutici. Ann. Fitopat. **1**, 2—67, 1952.
18. Ruggieri, G.: Varietà di limoni resistenti al mal secco. Giorn. Agric. Dom. **20**, 1936.
19. — —: Il manifestarsi in natura delle infezioni di mal secco attraverso i verdelli primaverili. Boll. Sta. Pat. Veg. **20**, n. s. 150—155, 1940.
20. Goidanich, G., Ruggieri, G.: Fattori che condizionano o contribuiscono allo sviluppo del mal secco degli agrumi e metodi di lotta contro il medesimo. Ann. Sper. Agr. **2**, 252—300, 1948.
21. Carrante, V., Ruggieri, G.: Esperienze di inoculazione della *Deuterophoma tracheiphila* Petri. Ann. Sper. Agr. n. s. **1**, 463—471, 1947.
22. Goidanich, G., Ruggieri, G.: Una rapida riproduzione sperimentale del mal secco degli agrumi. Ann. Sper. Agr. n. s. **1**, 141—145, 1947.

23. Bisceglie, V.: L'action des antivitamines K sur *Deuterophoma tracheiphila*. Bull. Soc. Chim. Biol. **33**, 9, 1247—1252, 1951.

24. Orshanskaja, V. N.: Alcuni risultati su uno studio delle culture di *Deuterophoma tracheiphila* Petri ed alcuni aspetti della loro applicazione nella lotta contro il mal secco degli agrumi. Bull. Acad. Sci. U.R.S.S. — Sez. Biol. **1**, 89—100, 1952 (in russo).

25. Gäumann, E., Naef-Roth, S., Miescher, G.: Untersuchungen über das Lycomarasmin. Phytop. Z. **16**, 3, 257—288, 1950.

26. Quilico, A., Cardani, C., Piozzi, F., Scrivani, P.: I pigmenti del *Deuterophoma tracheiphila*. Rend. Accad. Naz. Lincei XII, VIII, **6**, 650—657, 1952.

27. Bazzi, B., Scrivani, P.: Un metodo diagnostico per il riconoscimento del decorso del mal secco degli agrumi. Phytop. Z. **21**, 333—334, 1954.

28. Dimond, A. E., Plumb, G. L., Stoddard, E. M., Horsfall, J. G.: An evaluation of chemoterapy and vector control by insecticides for combacting Dutch Elm Diseases. Con. Agr. Expt. Sta. Bull. 531, 1949.

29. Bertossi, F., Capozzi, A.: A proposito dell'azione del filtrato di *Bakerophoma tracheiphila* Petri (Ciferri) su cultura di tessuti vegetali in vitro. Boll. Soc. It. Biol. Sper. XXVII, **4**, 601—602, 1951.

*Aus dem Botanischen Institut der Technischen Hochschule Braunschweig*

# Über die Infektion von Weizen und Roggen durch verschiedene *Tilletia*-Arten

Von

G. Gassner und E. Niemann

*Mit 1 Abbildung*

## I. Einleitung

Zwerg- und Roggensteinbrand sind in den letzten Jahren in verstärktem Maße in Süddeutschland und Österreich aufgetreten (Wagner 23, Warmbrunn 25, Pichler 17, 18). Beide werden, wie bekannt, vorwiegend durch den Boden übertragen. Nähere Angaben über die Abhängigkeit der Infektion von äußeren Faktoren liegen jedoch nicht vor, da für diese Arten die Keimungsbedingungen der Sporen nicht bekannt waren, Infektionsversuche unter definierten Bedingungen daher bisher nicht durchgeführt werden konnten. Für den gewöhnlichen Steinbrand sind diese Fragen bereits weitgehend geklärt.

Voraussetzung jeder Steinbrandinfektion ist ein Zusammentreffen infektionsfähiger Stadien des Parasiten mit empfänglichen Stadien des Wirtes.

Über die K e i m u n g der Steinbrandsporen — also den Vorgang, der zur Ausbildung der Infektionsstadien des Parasiten führt — und ihre Abhängigkeit von Temperatur und Belichtung wurde inzwischen in neueren Arbeiten von Lowther (14), Gassner (7), Pichler (18), Böning, Wagner und v. Minckwitz (2) sowie von Gassner und Niemann (8) berichtet. Die unterschiedliche Biologie und Infektionsart von Zwerg- und Roggensteinbrand einerseits und gewöhnlichem Steinbrand andrerseits ist danach vorwiegend im abweichenden Keimverhalten der Steinbrandsporen begründet.

Die vorliegenden Untersuchungen behandeln die eigentliche Steinbrand-i n f e k t i o n. Besonders berücksichtigt wird dabei die Abhängigkeit des Infektionserfolges vom Entwicklungszustand der Getreidekeimlinge und von der Temperatur. Hiermit sollten vor allem die Grundlagen zur Ausarbeitung einer sicheren, von den stark schwankenden Freilandbedingungen unabhängigen Infektionsmethode geschaffen werden. Obwohl es sich nur um einjährige Untersuchungen handelt, scheint es uns angebracht, die Ergebnisse wegen der Bedeutung dieses Problems für die Praxis schon jetzt zu veröffentlichen. Im laufenden Jahr wurden in erweiterter Form Wiederholungen durchgeführt, über die zur gegebenen Zeit berichtet werden wird.

Die Untersuchungen wurden aus Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft finanziert, der wir hierfür unseren Dank sagen.

## II. Material

Für die Infektionen wurden folgende Steinbrandarten[1]) und -herkünfte verwendet:

1. Gewöhnlicher Steinbrand (Weizensteinbrand, großer Steinbrand) [*Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter *Tilletia caries* Tul.]
   Herkunft 1950 Magdeburg
   Herkunft 1952 Magdeburg
2. Zwergsteinbrand des Weizens (Kurzsteinbrand, Zwergbrand, dwarf bunt of wheat) [*Tilletia tritici nanifica* Wagner *Tilletia brevifaciens* Fischer *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter *Tilletia caries* Tul.]
   Herkunft 1951 Pflanzenschutzamt Stuttgart
   Herkunft 1952 Pflanzenschutzamt Stuttgart
3. Roggensteinbrand [*Tilletia secalis* Kcke. *Tilletia tritici* f. sp. *secalis* Pichler *Tilletia tritici* (Bjerk.) Winter]
   Herkunft 1952 Rauris (Österreich)

Als Saatgut standen nachstehend aufgeführte Sorten der Ernte 1952 zur Verfügung:

| | |
|---|---|
| Winterweizen: | General von Stocken |
| | Carsten V |
| Sommerweizen: | v. Rümkers Sommerdickkopf |
| Winterroggen: | Petkuser Normalstroh |
| | Petkuser Tetraroggen |

Herrn Dr. PICHLER und dem Pflanzenschutzamt Stuttgart danken wir für das Steinbrandmaterial; den Saatzuchtbetrieben für die Überlassung des Saatgutes.

## III. Methodik

Um die Versuche unter definierten Bedingungen durchführen zu können, zum andern das Versuchsgelände nicht unnötig mit Zwerg- und Roggensteinbrand zu verseuchen, wurden die Infektionen während des Herbstes und Winters 1952/53 in Gefäßen durchgeführt (Tonschalen von 20 × 20 cm, mit Glasplatten abgedeckt). Diese Schalen mit den infizierten Keimlingen verblieben daraufhin einige Zeit bei bestimmten, in ihrer Wirkung auf den Infektionserfolg zu prüfenden Temperaturen. Anschließend wurden die Getreidepflanzen in Holzkästen in Erde pikiert und während des Winters in ein Frühbeet, das bei starkem Frost abgedeckt war, eingestellt. Im Frühjahr 1953 wurden die infizierten Pflanzen dann ins Freiland auf das Versuchsgelände der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft in Braunschweig-Gliesmarode verpflanzt.

Je Versuch waren allgemein 200 bis 250 Korn des vorher mit 0,1 %iger Formalinlösung gebeizten Saatgutes infiziert und ausgelegt. Nach Abzug der Ausfälle durch Um-

[1]) Da eine endgültige systematische Abgrenzung zur Zeit noch nicht möglich ist, werden alle bisher gebräuchlichen Bezeichnungen ohne eigene Stellungnahme angeführt.

pflanzen, Auswintern, Spatzenfraß u. a. konnten jeweils etwa 65 bis 200 Pflanzen (250 bis 1000 Ähren) im Herbst 1953 auf Steinbrandbefall ausgewertet werden. Diese Zahl ist, verglichen mit dem bei Feldversuchen üblichen Material, verhältnismäßig klein. Das ist bedingt durch den beschränkten Platz in den Gefäßen und Kühlräumen und den erheblichen Arbeitsaufwand, der mit dem Pikieren, Umpflanzen und Auszählen verbunden ist. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß bei Gefäßversuchen viele Faktoren (Mikroklima, Bodenart u. a.) ausgeschaltet sind, welche im Feldversuch den Steinbrandbefall unkontrollierbar beeinflussen würden. Die Ergebnisse dürfen daher als hinreichend gesichert angesehen werden.

Zu jeder Versuchsserie wurden Kontrollen mit nicht infiziertem Saatgut angesetzt. Da diese in keinem Fall Steinbrandbefall aufwiesen, werden sie bei den einzelnen Versuchen nicht mit aufgeführt.

Drei verschiedene Infektionsarten kamen zur Anwendung:

Saatgutübertragung: Einpudern des Saatgutes mit Steinbrandsporen und Auslegen in mäßig feuchte Gartenerde.

Bodenübertragung: Gartenerde mit Steinbrandsporen vermischt, einige Zeit Aufstellung bei einer für die Steinbrandkeimung günstigen Temperatur; dann Einlegen des Saatgutes in die Erde.

Keimlingsinfektion mit vorgekeimten Sporidien: Steinbrandsporidien auf Schlämmboden angezogen. Die Sporidien wurden dann mit einem Pinsel und Wasser vom Schlämmboden abgeschwemmt und mittels eines Fixativzerstäubers auf die vorgekeimten Getreidekeimlinge aufgestäubt. Die Keimlinge waren dazu in Gefäßen auf feuchtem Sand ausgelegt.

Ausführliche Angaben zur Keimung der Steinbrandsporen werden bei Gassner und Niemann (8) und weiteren in Vorbereitung befindlichen Veröffentlichungen gemacht. Diese Untersuchungen — besonders über die Lichtkeimung der Sporen — waren bei Durchführung der Infektionsversuche im Winter 1952/53 noch nicht abgeschlossen. Es wurden daher für die Keimlingsinfektion folgende, nach dem damaligen Stand der Untersuchungen günstigste Methoden zur Anzucht der Sporidien verwendet.

Für gewöhnlichen Steinbrand: Ausstreichen der Sporen auf Schlämmboden und Aufstellung bei einer Temperatur von 10° bis 15° in relativer Dunkelheit.

Für Zwergsteinbrand: Ausstreichen der Sporen auf Schlämmboden; Aufstellung bei + 5° in relativer Dunkelheit. Nach vier Wochen wurden die Sporenausstriche mit einer 10%igen wäßrigen Kaliumpermanganatlösung übergestrichen und nochmals vier Wochen bei gleicher Temperatur stehen gelassen.

Für Roggensteinbrand: Ausstreichen der Sporen auf einem, durch fünfmaliges Erhitzen im Dampftopf sterilisierten Schlämmboden. Fünf Wochen Aufstellung bei + 5° in relativer Dunkelheit.

Gewöhnlicher Steinbrand und Roggensteinbrand ergaben bei den hier verwendeten Anzuchtmethoden sehr gute Sporenkeimung und Sporidienbildung; bei Zwergsteinbrand mittlere Keimung.

Nach der Infektion wurden die Keimlinge bei verschiedenen Temperaturen [+ 2° (± 1°), + 5° (± 1°), + 12° (± 2°)] in relativer Dunkelheit aufgestellt. Die Dauer der Aufstellung wechselte je nach Infektionsart und Temperatur, da alle Pflanzen einer Versuchsserie beim Pikieren bzw. Verpflanzen nach Möglichkeit gleiche Länge haben sollten.

## IV. Empfänglichkeitsdauer von Weizenkeimlingen für Steinbrandinfektion

### 1. Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand

Nach Kühn (12), Wolff (26), Brefeld (4) und Hecke (9) können nur verhältnismäßig kleine Weizenkeimlinge durch den Steinbrandpilz infiziert werden. Allgemein wird von ihnen angegeben, daß die Keimlinge nur bis zum

Durchbruch des Primärblattes empfänglich für die Infektion sind. WOOLMAN und HUMPHREY (27) führen allerdings an, daß unter bestimmten Bedingungen bei künstlicher Infektion auch noch etwas ältere Keimlinge befallen werden können. Da diese Frage sowohl für das Verständnis des Infektionsvorganges wie auch für die Ausarbeitung einer künstlichen Infektionsmethode von Bedeutung ist, wurden von uns zur Nachprüfung dieser Angaben Infektionen an Keimlingen verschiedener Länge durchgeführt.

Winterweizen (Carsten V) wurde dazu auf feuchtem Sand am Tageslicht bei 8° bis 20° (Gewächshaus) verschieden lange vorgekeimt, die Keimlinge dann nach Länge sortiert und am 11. Oktober 1952 mit vorgekeimten Sporidien des gewöhnlichen Steinbrandes (Herkunft 1952) übersprüht. Weitere Aufstellung der infizierten Keimlinge drei Tage bei + 12°; dann Pikieren in Kästen und Aufstellung im Frühbeet. Diese Versuchsreihe wurde abweichend von allen übrigen Versuchen bereits Ende Oktober 1952 — nicht erst im folgenden Frühjahr — ins Freiland verpflanzt und ist daher verhältnismäßig stark ausgewintert.

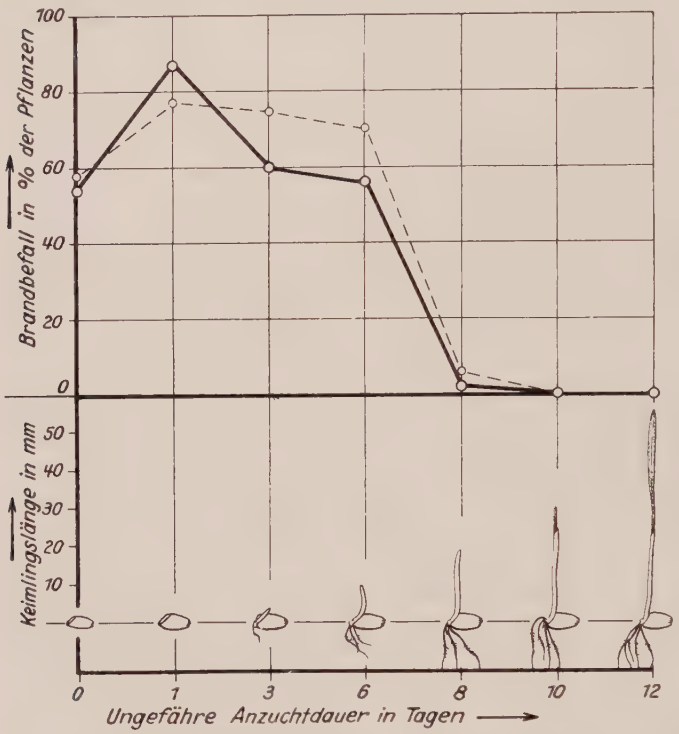


Abb. 1. Empfänglichkeitsdauer von Weizenkeimlingen für Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand (Gefäßversuch) ——— Keimlingsanzucht am Licht, - - - - Keimlingsanzucht in Dunkelheit. Weitere Angaben im Text

Abbildung 1 (durchgezogene Linie) zeigt den Steinbrandbefall (Prozent der Pflanzen) nach Infektion der verschiedenen Entwicklungsstadien des Weizens. Stärkster Befall tritt in dem Versuch auf, bei dem das Saatgut nach eintägiger Vorquellung mit den Steinbrandsporidien übersprüht wurde. Auch bei Infektion von 5—10 mm langen Keimlingen ist noch starker Befall zu erzielen. Bei 20 mm Länge kaum, bei noch längeren Keimlingen kein Infektionserfolg mehr.

Von RABIEN (19) wird angegeben, daß im Dunkeln angezogene Weizenkeimlinge etwas anfälliger für den Steinbrandbefall sind als solche, die am Licht vorgekeimt wurden. Möglicherweise ist das härtere Gewebe der am Licht angezogenen Pflanzen vom Infektionsmyzel des Pilzes besonders schwer zu

durchdringen. Es wurde daher gleichzeitig mit obiger Serie ein Parallelversuch angesetzt, bei dem die Keimlingsanzucht in Dunkelheit erfolgte. Die Infektion und weitere Aufstellung entspricht den oben gemachten Angaben. Das Ergebnis zeigt Abb. 1 (unterbrochene Linie). Infektion der im Dunkeln angezogenen Keimlinge von 5 mm und 10 mm Länge ergibt zwar einen um ein geringes höheren Befall als nach Anzucht der Keimlinge am Licht. Diese Unterschiede zwischen beiden Reihen können aber bei der geringen Zahl der ausgewerteten Pflanzen (80 bis 150 Pflanzen für jeden in der Abbildung angeführten Punkt) nicht als gesichert betrachtet werden. Infektion von 20 mm langen Keimlingen erbrachte auch in dieser Serie kaum noch einen Infektionserfolg.

*Tabelle 1*

Infektion von Weizen mit gewöhnlichem Steinbrand
(Feldversuch)

Saatgut: Sommerweizen — v. Rümkers Sommerdickkopf

Infektionsmaterial: Gewöhnlicher Steinbrand (Herkunft 1950)

Auslegen des Saatgutes: am 31. März 1953, je Versuch 300 Korn, 2 cm tief einzeln in Löcher eingelegt (15 cm Reihenabstand, 5 cm Abstand in der Reihe)

Witterung nach Aussaat: starker Regen

| Versuch | Art der Infektion | Zeitpunkt der Infektion | Zahl der ausgewerteten Ähren | Steinbrandbefall (in % der Ähren) |
|---|---|---|---|---|
| a | Saatgut mit Steinbrandsporen eingestäubt (5 g/kg) | vor Auslegen des Saatgutes | 569 | 19 |
| b | Steinbrandsporen auf das Saatbeet aufgesprüht (2 g/qm) | sofort nach Aussaat (31. März 1953) | 507 | 7 |
| c | wie b | Zwölf Tage nach Aussaat, beim Durchbruch der Koleoptilen durch die Erdoberfläche (12. April 1953) | 700 | 0 |
| d | vorgekeimte Steinbrandsporidien auf das Saatgut aufgesprüht | wie c | 625 | 0 |

Beide Versuchsreihen bestätigen die Angaben der Literatur, daß nur sehr kleine Weizenkeimlinge empfänglich für die Steinbrandinfektion sind. Diese Untersuchungen wurden ergänzt durch einen im Frühjahr 1953 angelegten Feldversuch, bei dem Weizen auf verschiedene Art mit gewöhnlichem Steinbrand infiziert worden war. Es sollte entschieden werden, ob im Freiland eine Infektion der Weizenkeimlinge noch zu der Zeit erfolgen kann, wo die Koleoptilen bereits die Erdoberfläche durchbrechen; ob also auf der Bodenoberfläche liegende oder durch den Wind angewehte Steinbrandsporen bzw. Sporidien eventuell eine Bedeutung für das Steinbrandauftreten (Bodeninfektion) haben können. Die Anlage der Versuchsserie ist aus Tabelle 1 ersichtlich.

Bei Versuch a (Saatgutübertragung) wird ein verhältnismäßig geringer Steinbrandbefall von 19 % — bedingt durch den späten Aussaattermin — erreicht. Infektion durch Übersprühen der Saatbeete mit Steinbrandsporen zwölf Tage nach Aussaat des Getreides (c) oder mit vorgekeimten Sporidien (d) — zu einem Zeitpunkt also, zu dem die Keimlinge bereits die Erdoberfläche durchbrechen — ergibt keinen Steinbrandbefall. Es ist daher anzunehmen, daß eine Infektion der Keimlinge beim Durchbrechen der Erdoberfläche im allgemeinen nicht mehr bzw. höchstens bei flach gesätem Getreide möglich ist. Dem scheint der Steinbrandbefall (7 %) in Versuch b entgegenzustehen, wo die Steinbrandsporen unmittelbar nach dem Auslegen des Weizens auf das glattgestrichene Saatbeet aufgesprüht wurden. Die Infektion muß hier jedoch nicht unbedingt erst an der Bodenoberfläche erfolgt sein. In der Zeit nach dem Auslegen des Getreides regnete es stark. Es besteht daher durchaus die Möglichkeit, daß die Steinbrandsporen durch den Regen in den Boden eingewaschen und in die Nähe des keimenden Korns gebracht wurden, so daß in diesem Fall die Infektion des empfänglichen Keimlings bereits im Boden selbst erfolgt sein könnte.

### 2. Infektion mit Zwergsteinbrand

Der Zwergsteinbrand wird durch Bodeninfektion übertragen. Da Angaben darüber, bis zu welcher Länge Weizenkeimlinge für Zwergsteinbrandinfektion empfänglich sind, bisher nicht vorliegen, erschienen uns Versuche in dieser Richtung von besonderer Bedeutung. Weizenkeimlinge verschiedener Länge wurde zu diesem Zweck mit vorgekeimten Sporidien des Zwergsteinbrandes übersprüht und dann zwei Wochen bei + 5 ° aufgestellt. Weitere Angaben zur Versuchsdurchführung sind aus der folgenden Tabelle 2 zu ersehen.

*Tabelle 2*

Empfänglichkeitsdauer von Weizen für die Zwergsteinbrandinfektion (Gefäßversuch)

Saatgut: Winterweizen — General von Stocken. Ankeimen auf feuchtem Sand bei 10 ° bis 17 ° am Licht

Infektion: Besprühen mit vorgekeimten Sporidien des Zwergsteinbrandes (Herkunft 1951)

Aufstellung nach Infektion: Zwei Wochen bei + 5 ° (14. bis 28. Januar 1953), dann Pikieren in Kästen. Im Frühjahr Verpflanzen ins Freiland

| Länge bzw. Entwicklungsstadium der Weizenkeimlinge bei Infektion | Zahl der ausgewerteten Pflanzen | Zwergsteinbrandbefall (% der Pflanzen) | davon teilbefallen |
|---|---|---|---|
| ungequollen | 160 | 0,6 | |
| Koleoptile etwa 2 mm | 162 | 15,4 | 5 Pflanzen von 25 |
| Koleoptile 5—10 mm | 160 | 1,9 | 1 Pflanze von 3 |
| Koleoptile 10—30 mm | 178 | 0,6 | |

Der stärkste Befall (15,4 %) war zu erreichen, wenn Weizenkeimlinge von etwa 2 mm Länge mit den vorgekeimten Zwergsteinbrandsporidien über-

Ein Temperatureinfluß auf die Sporenkeimung des Steinbrandes und die Entwicklung des Keimlings ließ sich ausschalten, wenn empfängliche Weizenkeimlinge mit vorgekeimten Steinbrandsporidien übersprüht wurden — Keimlingsinfektion (Tabelle 5). Bei diesem Versuch wird daher vorwiegend die Temperaturabhängigkeit des eigentlichen Infektionsvorganges erfaßt. Stärkster Steinbrandbefall (81 %) ergibt sich zwar auch hier bei + 12 °, doch ist immerhin bei + 2 ° C der Infektionserfolg noch beträchtlich (52 %). Der eigentliche Infektionsvorgang erweist sich demnach nur in geringem Maße durch tiefe Temperatur gehemmt. Bezüglich der vorher aufgeführten Versuchsergebnisse der Tabelle 3 muß daher gefolgert werden, daß die starke Herabsetzung des Steinbrandbefalls bei Saatgutübertragung durch tiefe Temperatur zum größten Teil darauf zurückzuführen ist, daß ein Zusammentreffen empfänglicher Stadien des Wirtes mit infektionsfähigen Stadien des Parasiten infolge unterschiedlicher Keimgeschwindigkeit verhindert wird, eine Infektion also zumeist überhaupt nicht stattfinden kann.

Bei Bodenübertragung (Tabelle 4), wo die mit Steinbrandsporen vermischte Erde vor Einlegen des Weizens zwei Wochen bei + 5 ° C stehenblieb (während dieser Zeit erfolgt bereits die Sporenkeimung), ist der Steinbrandbefall allgemein um 20—30 % geringer als bei den entsprechenden Versuchen mit Keimlingsinfektion (Tabelle 5). Dies dürfte wahrscheinlich darin begründet sein, daß durch die Verteilung der Steinbrandsporen in der Erde sich nur verhältnismäßig wenig Sporen bzw. Sporidien in der Nähe des Weizenkeimlings befinden, die Aussicht für das Zustandekommen einer Infektion daher geringer ist als bei Keimlingsinfektion.

### 2. Infektionen mit Zwergsteinbrand

In letzter Zeit konnte von Lowther (14), Gassner (7), Böning, Wagner und v. Minckwitz (2), Pichler (18) und Gassner und Niemann (8) gezeigt werden, daß die Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes nur bei tiefen Temperaturen möglich ist. Für diese Art waren deshalb Untersuchungen darüber, wieweit auch die Infektion temperaturbeeinflußt ist, von besonderem Interesse. Es wurden hierzu Keimlingsinfektionen von Weizen mit Zwergsteinbrandsporidien in ähnlicher Weise, wie oben für den gewöhnlichen Steinbrand angegeben, durchgeführt. Bei den ersten, im Winter 1952 angelegten Gefäßversuchen konnte infolge unzulänglicher Anzuchtmethodik nur Infektionsmaterial mit einem geringen Sporidiengehalt zum Besprühen der Keimlinge verwendet werden; die Versuche ergaben daher bei Auswertung im folgenden Herbst kaum Zwergsteinbrandbefall. Im März 1953 wurde aus diesem Grund ein weiterer Gefäßversuch angesetzt, bei dem die Sporidienanzucht (durch Behandlung der Sporenausstriche mit Kaliumpermanganat) wesentlich verbessert worden war (Tabelle 6). Um hierbei den infizierten Winterweizen trotz der fortgeschrittenen Jahreszeit noch zum Schossen zu bringen, war es nötig, die Keimlinge vor dem Verpflanzen ins Freiland einige Zeit zu vernalisieren (52 Tage bei + 2 °).

*Tabelle 6*

Keimlingsinfektion von Weizen mit Zwergsteinbrandsporen (Gefäßversuch)

Saatgut: Winterweizen — General von Stocken. Keimlinge von 2 bis 10 mm Länge (am Licht angezogen).

Infektion: Besprühen mit vorgekeimten Sporidien des Zwergsteinbrandes (Herkunft 1952).

Aufstellung nach Infektion: In relativer Dunkelheit bei den angegebenen Temperaturen. Anschließend Verpflanzen ins Freiland am 30. Mai 1953. Auswertung der Versuche am 22. September 1953.

Die in Klammern angeführten Zahlen geben die Anzahl der bei jedem Versuch ausgewerteten Pflanzen.

| Aufstellung der Keimlinge nach Infektion | drei Wochen (18. 3. bis 8. 4.) bei + 2° C, dann 52 Tage (8. 4. bis 30. 5.) bei + 2° | zwei Wochen (26. 3. bis 8. 4.) bei + 5° C, dann 52 Tage (8. 4. bis 30. 5.) bei + 2° | eine Woche (1. 4. bis 8. 4.) bei + 12° C, dann 52 Tage (8. 4. bis 30. 5.) bei + 2° |
|---|---|---|---|
| Steinbrandbefall (% der Pflanzen) | 12,5 % (152) | 3,7 % (162) | 1,2 % (79) |

Als Hauptergebnis ist festzustellen, daß — umgekehrt wie beim gewöhnlichen Steinbrand — die Infektion durch tiefe Temperaturen begünstigt wird: Stärkster Infektionserfolg (12,5 %) war zu erreichen, wenn die Keimlinge nach Infektion einige Zeit bei + 2° aufgestellt wurden; kaum Befall (1,2 %), wenn sie während der ersten Woche bei + 12° C verblieben. Dabei ist zu beachten, daß in jedem Fall die Keimlinge anschließend bei + 2° vernalisiert wurden. Entscheidend dafür, daß die Infektion angeht, ist also die Temperatur, die unmittelbar nach der Infektion einwirkt. Aufstellung der etwas größeren Pflanzen bei tiefer Temperatur beeinflußt anscheinend den Infektionserfolg nicht.

Der Brandbefall nach Aufstellung bei 5° C ist nur verhältnismäßig gering (3,7 %). Ein Vergleich mit der in Tabelle 2 wiedergegebenen Reihe, bei der die Keimlinge gleichfalls nach der Infektion bei + 5° aufgestellt wurden, ergibt gute Übereinstimmung, denn auch hier wiesen die bei 5—10 mm Länge infizierten Keimlinge nur schwachen Zwergsteinbrandbesatz (1,9 %) auf. Da andererseits Keimlinge von 2 mm Länge in dem Versuch der Tabelle 2 einen Infektionserfolg von 15,4 % ergaben, ist anzunehmen, daß in dem Versuch der Tabelle 6 allgemein ein stärkerer Befall zu erreichen gewesen wäre, wenn auch hier, an Stelle der 2 bis 10 mm langen, etwas kleinere Keimlinge zur Infektion verwendet worden wären.

Ein weiterer Versuch wurde durchgeführt, um Sommerweizen mit Zwergsteinbrand zu infizieren. Weizenkeimlinge von 2 mm Länge (v. Rümkers Sommerdickkopf) wurden im Januar 1953 mit vorgekeimten Sporidien des Zwergsteinbrandes (Herkunft 1952) übersprüht, anschließend zwei Wochen bei + 5° aufgestellt und dann ins Holzkästchen pikiert. Im Frühjahr 1953 wurden sie ins Freiland verpflanzt. Von 157 Pflanzen wiesen bei Auswertung im Herbst 25 Pflanzen = 16 % Zwergsteinbrandbefall auf. Grundsätzlich ist es unter geeigneten Bedingungen also durchaus möglich, auch Sommerweizen

sprüht wurden. Infektion des ungequollenen Saatgutes, wie auch der Keimlinge von 10—30 mm Länge ergab kaum Befall (0,6 %). Genau wie bei Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand sind also bei dieser Infektionsmethode besonders die kleineren Weizenkeimlinge empfänglich für Zwergsteinbrandinfektion.

## V. Temperaturabhängigkeit der Steinbrandinfektion

### 1. Infektion mit gewöhnlichem Steinbrand

Zahlreiche Veröffentlichungen befassen sich mit der Temperaturabhängigkeit der Steinbrandinfektionen (Hecke 9, Rabien 19, Feucht 6, v. Olgyay 16). Übereinstimmend wurde festgestellt, daß Einwirkung hoher Temperatur nach Aussaat (über 20 ° C) den Steinbrandbefall weitgehend herabsetzt. Laupert (13) führt an, daß aus diesem Grund in Südrußland, wo der Weizen schon verhältnismäßig früh im Herbst bei warmer Witterung gesät wird, der Weizensteinbrand — auch ohne Beizung des Getreides — nur von untergeordneter Bedeutung ist. Bezüglich der Wirkung mittlerer Temperatur auf den Steinbrandbefall weichen die Angaben etwas voneinander ab. So beobachteten Hecke (9) und Feucht (6) bei Temperaturen von 6 °—10 °, Rabien (19) um 10 ° und v. Olgyay (16) bei 10 °—18 ° C stärksten Befall. Nach Bonne (3) wird das Brandauftreten durch mittlere fallende wie auch durch niedrige Temperaturen begünstigt.

In eigenen Gefäßversuchen wurde mit gewöhnlichem Steinbrand infizierter Weizen nach der Infektion bei verschiedener Temperatur (+ 2 °, + 5 °, + 12 ° C) aufgestellt. Hohe Temperaturen kamen nicht zur Anwendung, da deren Wirkung auf den Steinbrandbefall hinreichend geklärt sein dürfte. Es wurden verschiedene Infektionsarten — Saatgutübertragung (Tabelle 3), Bodenübertragung (Tabelle 4) und Keimlingsinfektion (Tabelle 5) — verwendet.

*Tabelle 3*

Infektion durch Saatgutübertragung (Gefäßversuch)
Bestäuben des Weizens mit Steinbrandsporen (5 g/kg), dann Einlegen in Gefäße in Gartenerde

| Aufstellung nach Einlegen des infizierten Weizens | | 8 Wochen (19. 12.—13. 2.) bei + 2 ° C | 5 Wochen (9. 1.—13. 2.) bei + 5 ° C | 2½ Wochen (26. 1.—13. 2.) bei + 12 ° C |
|---|---|---|---|---|
| Steinbrandbefall (% der Pflanzen) | a | 6 % (63) | 39 % (174) | 68 % (192) |
| | b | 6 % (87) | 55 % (173) | 72 % (190) |
| | Mittel | 6 % | 47 % | 70 % |

Erläuterungen zu den Tabellen 3 bis 5

Saatgut: Winterweizen — General von Stocken.

Infektionsmaterial: Gewöhnlicher Steinbrand (Herkunft 1952).

Aufstellung nach der Infektion: In relativer Dunkelheit bei verschiedener Temperatur. Anschließend Pikieren in Kästen und Aufstellung im Frühbeet. Im Frühjahr Verpflanzen ins Freiland.

Die in Klammern angeführten Zahlen geben die Anzahl der bei dem betreffenden Versuch ausgewerteten Pflanzen an. Für jede Versuchsreihe wurden zwei Parallelserien (a und b) angesetzt. Es wird außerdem das Mittel aus beiden Serien angegeben.

*Tabelle 4*

Infektion durch Bodenübertragung (Gefäßversuch)

Vermischen von Gartenerde mit Steinbrandsporen (2 g/kg); zwei Wochen Aufstellung bei + 5 ° C (Keimung der Sporen). Anschließend Einlegen des Weizens in die infizierte Erde.

| Aufstellung nach Einlegen des Weizens | | 4 Wochen (13. 2.—14. 3.) bei + 2 ° C | 2 Wochen (13. 2.—27. 2) bei + 5 ° C | 1 Woche (13. 2.—20. 2.) bei + 12 ° C |
|---|---|---|---|---|
| Steinbrandbefall (% der Pflanzen) | a | 22 % (172) | 33 % (174) | 59 % (196) |
| | b | 27 % (98) | 39 % (152) | 62 % (203) |
| | Mittel | 24 % | 36 % | 61 % |

*Tabelle 5*

Keimlingsinfektion (Gefäßversuch)

Besprühen von 2 mm langen Weizenkeimlingen mit Sporidien des gewöhnlichen Steinbrandes

(Der Unterschied im Infektionserfolg der Versuche bei 2 ° und bei 5 ° C ist nicht gesichert)

| Aufstellung der Keimlinge nach Infektion | | 3 Wochen (19. 1.—9. 2.) bei + 2 ° C | 2 Wochen (19. 1.—2. 2.) bei + 5 ° C | 1 Woche (19. 1.—26. 1.) bei + 12 ° C |
|---|---|---|---|---|
| Steinbrandbefall (% der Pflanzen) | a | 64 % (88) | 51 % (98) | 83 % (150) |
| | b | 40 % (87) | 69 % (149) | 79 % (166) |
| | Mittel | 52 % | 62 % | 81 % |

Bei allen drei Infektionsarten ist der stärkste Befall nach Aufstellung bei + 12 ° C zu erzielen; tiefe Temperatur setzt den Steinbrandbefall herab. Vergleicht man die drei Infektionsarten untereinander, so ist gerade der Befall bei tiefer Temperatur sehr unterschiedlich, da bei + 2 ° und Saatgutübertragung nur 6 %, nach Keimlingsinfektion bei gleicher Temperatur 52 % (40 % und 64 %) Befall erzielt wurde.

Bei Infektion durch Saatgutübertragung (Tabelle 3) handelt es sich, wie bereits HECKE (9) hervorhebt, um keinen einheitlichen Vorgang. Sowohl die Keimung der Steinbrandsporen — als Vorbedingung einer Infektion — wie auch die Keimung und Entwicklung des Weizens sind temperaturabhängig. Da die Weizenkeimlinge, wie in Abb. 1 gezeigt wurde, nur bis zu einer bestimmten Länge für die Infektion empfänglich bleiben — besonders bei hoher Temperatur diesem Stadium daher schnell entwachsen —, hängt die Möglichkeit einer Infektion weitgehend davon ab, daß beide Vorgänge aufeinander abgestimmt sind. Daneben kann aber auch der eigentliche Infektionsvorgang (Eindringen des Parasiten in den Wirt und weitere Ausbreitung in demselben) durch die Temperatur beeinflußt werden. Tiefe Temperatur (+ 2 ° C) wirkt nun bei Saatgutübertragung auf alle Vorgänge zusammen in der Richtung ein, daß der Infektionserfolg herabgesetzt wird (6 % Befall). Welche der aufgezählten Faktoren dabei im einzelnen beeinflußt werden, läßt sich aus diesem Versuch allein nicht erkennen.

Die Infektion der Getreidekeimlinge durch Zwerg- und Roggensteinbrand erfolgt vorwiegend durch Bodenübertragung. Hinweise in der Literatur (Nieves 15, Fajersson 5) lassen vermuten, daß diese Infektionsart gelegentlich auch für den gewöhnlichen Steinbrand Bedeutung erlangen kann. Eine Bodenübertragung wäre auf zweierlei Art möglich: Entweder wird der junge Keimling bereits im Boden durch das Infektionsmyzel des Steinbrandpilzes infiziert, oder aber die Infektion erfolgt erst zu einem späteren Zeitpunkt, wenn die Koleoptilen bereits die Erdoberfläche durchbrechen.

Von seiten Wagners (24) wird bezüglich des Zwergsteinbrandes die Ansicht vertreten, daß die Infektion vorwiegend beim Durchbruch des Keimlings durch die Erdoberfläche vor sich geht, da nur hier den Sporen das zur Auslösung der Keimung nötige Licht zur Verfügung steht. Gestützt wird diese Ansicht dadurch, daß der Zwergsteinbrandbefall durch eine Oberflächenbehandlung des Bodens mit chemischen Mitteln (Brassicol u. a.) weitgehend verhindert werden kann. Falls nicht eine innertherapeutische Wirkung dieser Mittel vorliegt, wie sie von Rademacher (20) vermutet wurde, müßte deren Wirkung vornehmlich auf die Sporenkeimung des Steinbrandes, die zeitlich der Infektion vorangeht, erfolgen. Nun ist jedoch auch eine Bodenbehandlung mit chemischen Mitteln, die erst vier Wochen nach Aussaat vorgenommen wird, noch voll wirksam. Daraus folgert Wagner (24), daß in diesem Fall die Infektion erst vier Wochen nach der Aussaat — also an älteren Keimlingen — erfolgt sein kann.

Das Ergebnis unserer eigenen Untersuchungen läßt sich vorerst mit dieser Ansicht nicht in Einklang bringen. Nur sehr kleine Keimlinge erwiesen sich allgemein als empfänglich für Steinbrandinfektion, während Keimlinge von 20 bis 30 mm Länge — wie sie bei Oberflächeninfektion angenommen werden müssen — kaum noch infiziert werden konnten. Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, daß unsere Ergebnisse sich auf Gefäßversuche gründen. Möglicherweise wirken im Freiland weitere Faktoren mit, die auch bei älteren Keimlingen die Empfänglichkeitsdauer verlängern können. Zum Beispiel waren die in unseren Versuchen zur Infektion verwendeten Keimlinge unverletzt, während dies unter Freilandbedingungen im allgemeinen nicht zutreffen dürfte. Eventuell können gerade durch kleine Verletzungen — im Boden auf vielerlei Art möglich — für den Pilz zusätzliche Eintrittspforten geschaffen werden, die den Keimling länger empfänglich bleiben lassen. Eine Versuchsserie zur Klärung dieser Frage läuft zur Zeit.

Von Gassner und Niemann (8) wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Keimung und Sporidienbildung der Steinbrandsporen nicht unbedingt an der Bodenoberfläche am Licht erfolgen muß. Es genügt vielmehr, daß die Sporen zur Induktion der Keimung einige Zeit dem Licht ausgesetzt waren; die weiteren Keimungsprozesse und die Sporidienbildung laufen dann auch bei Dunkelheit ab. Im Hinblick auf die Infektionsart würde dies bedeuten, daß Sporen, die im Anschluß an die Belichtung in den Boden eingebracht werden, hier trotzdem noch zur Keimung gelangen und den Keimling bereits im Boden infizieren können. Ein Einbringen der Sporen in den Boden könnte

dabei durch die Bodenbearbeitung, bei der Aussaat des Getreides oder durch Einwaschen bei starkem Regen — wie es Versuch b der Tabelle 1 andeutet — vor sich gehen.

Alle diese Fragen sind noch nicht völlig geklärt. Die eigenen Untersuchungen können nur als Anregung gewertet werden. Für die Bekämpfung des Zwerg- und Roggensteinbrandes durch Bodenbehandlung mit chemischen Mitteln oder durch Kulturmaßnahmen ist aber gerade eine genaue Kenntnis des Infektionsvorganges unerläßlich. Weitere Untersuchungen sind daher dringend erforderlich.

Bei der Bekämpfung des Zwergsteinbrandes wurden in Amerika mit der Züchtung r e s i s t e n t e r Sorten bereits gute Erfolge erzielt (BAMBERG 1, HOLTON and SUNESON 11, HOLTON, BAMBERG and WOODWARD 10). Unter deutschen Verhältnissen prüfte bisher nur WARMBRUNN (25) die Anfälligkeit verschiedener Sorten für Steinbrandbefall, ohne daß diese Untersuchungen bisher praktische Bedeutung erlangt hätten. Unsere eigenen Infektionsversuche mit Roggensteinbrand an Petkuser Tetra-Roggen lassen es möglich erscheinen, daß auch gegen diese Krankheit resistente Roggensorten vorhanden sind.

Eine systematische Prüfung des deutschen Weizen- und Roggensortiments auf Resistenz gegen diese beiden Krankheiten wäre demnach durchaus erfolgversprechend. Sie setzt eine von den Außenbedingungen unabhängige I n f e k t i o n s m e t h o d e voraus. Die von uns verwendete Methode der Keimlingsinfektion erfüllt diese Bedingung und gestattet — unabhängig von Jahreszeit und Witterung — die Durchführung größerer Reihenuntersuchungen. Die wesentlichsten Punkte dieser für Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand in gleicher Weise geeigneten Methode sind folgende:

a) Es müssen zur Infektion vorgekeimte Sporidien verwendet werden (Anzucht bei tiefer Temperatur am Licht oder unter Zusatz von Chemikalien).

b) Die zu infizierenden Keimlinge sollen etwa 2 mm (höchstens 5 mm) lang sein, um optimalen Infektionserfolg zu gewährleisten.

c) Nach der Infektion müssen die infizierten Keimlinge einige Wochen bei Temperaturen von etwa + 2 ° aufgestellt werden, bevor sie ins Freiland umgestellt bzw. verpflanzt werden können.

Versuche darüber, wie weit sich die verwendete Infektionsmethode in Einzelheiten noch abändern oder verbessern läßt, laufen zur Zeit.

## Zusammenfassung

1. Es wird über das Ergebnis einjähriger Gefäß-Infektionsversuche mit gewöhnlichem Steinbrand und Zwergsteinbrand an Winter- und Sommerweizen und mit Roggensteinbrand an Winterroggen berichtet.
2. Drei verschiedene Infektionsarten kamen zur Anwendung:
   a) Saatgutübertragung: durch Einstäuben von Saatgut mit Steinbrandsporen und Auslegen in Erde;

mit Zwergsteinbrand zu infizieren. Lediglich die Anpassung des Zwergsteinbrandes an tiefe Temperaturen verhindert in der Natur den Übergang auf das Sommergetreide.

Infektionsversuche mit Zwergsteinbrand unter Verwendung von Saatgutübertragung oder Bodenübertragung (in den Boden eingearbeitete Sporen), die im Winter 1952/53 angesetzt wurden, führten in keinem Fall zu Zwergsteinbrandbesatz. Es erübrigt sich daher, näher auf diese Versuche einzugehen. Das Versagen dieser Infektionsarten — auch in der Natur führt Saatgutübertragung nur selten zu einem Infektionserfolg — ist, wie aus den neueren Untersuchungen über die Sporenkeimung des Zwergsteinbrandes hervorgeht (Gassner 7, Böning, Wagner und v. Minckwitz 2, Gassner und Niemann 8), vorwiegend darauf zurückzuführen, daß den Zwergsteinbrandsporen unter diesen Bedingungen das zur Auslösung der Sporenkeimung nötige Licht fehlt.

### 3. Infektion mit Roggensteinbrand

Bezüglich der Sporenkeimung ähneln Zwerg- und Roggensteinbrand einander (Pichler 18, Gassner und Niemann 8): sie sind beide an tiefe Temperatur angepaßt. Hinsichtlich der Abhängigkeit des Infektionserfolges von der Temperatur verhalten sich beide Arten bzw. Formen ebenfalls durchaus gleichartig, da — wie Tabelle 7 zeigt — auch der Roggensteinbrandbefall durch tiefe Temperatur sehr begünstigt wird.

*Tabelle 7*

Keimlingsinfektion von Roggen mit Rogggensteinbrand-Sporidien (Gefäßversuch)

Saatgut: Winterroggen — Petkuser Normalstroh. Keimlinge von 2 mm Länge (am Licht angezogen).

Infektion: Besprühen mit vorgekeimten Sporidien des Roggensteinbrandes.

Aufstellung nach Infektion: In relativer Dunkelheit bei den angegebenen Temperaturen. Anschließend Pikieren und Aufstellung im Frühbeet. Im Frühjahr ins Freiland verpflanzt.

Die in Klammern angeführten Zahlen geben die Anzahl der bei jedem Versuch ausgewerteten Pflanzen.

| Aufstellung der Keimlinge nach Infektion | drei Wochen (14. 2. bis 7. 3.) bei + 2° C | zwei Wochen (14. 2. bis 28. 2.) bei + 5° C | eine Woche (14. 2. bis 21. 2.) bei + 12° C |
|---|---|---|---|
| Steinbrandbefall (% der Pflanzen) | 41 % (170) | 30 % (158) | 4 % (168) |

Obiger Versuch wurde mit Winterroggen Petkuser Normalstroh angesetzt. Nebenher lief ein einzelner Parallelversuch, bei dem Keimlinge des Petkuser Tetra-Roggens mit Roggensteinbrandsporidien infiziert und anschließend zwei Wochen bei + 5° C aufgestellt worden waren. Unter 226 Pflanzen wiesen nur 2 % Roggensteinbrandbefall auf, gegenüber einer Befallstärke von 30 % in dem vergleichbaren Versuch der Tabelle 7. Es bliebe zu prüfen, ob sich der Tetra-Roggen auch in den Hauptbefallsgebieten des

Roggensteinbrandes in Österreich unter Freilandbedingungen als resistent gegen diese Krankheit erweist.

Einige weitere Versuchsreihen mit Roggensteinbrandinfektion durch Saatgutübertragung oder Bodenübertragung hatten keinen Erfolg. Die Gründe hierfür dürften die gleichen sein wie beim Zwergsteinbrand.

## VI. Diskussion

Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand sind in ihrer Verbreitung in Europa enger begrenzt als der gewöhnliche Steinbrand, wobei vor allem auch das Auftreten von Jahr zu Jahr stark schwankt (VOLKART 22, PICHLER 17, WAGNER 23, BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ 2).

Ein Vergleich der Klimaangaben der Hauptbefallsgebiete Süddeutschlands, z. B. der Schwäbischen Alb (WARMBRUNN 25) oder Niederbayerns (WAGNER 23), mit denen von nahegelegenen befallsfreien Gebieten läßt vor allem eine Anpassung an bestimmte Temperaturen vermuten, denn alle mit Zwergsteinbrand verseuchten Gegenden weisen verhältnismäßig niedrige Temperaturen des Spätherbstes auf (langjährige Mittel in: Klimakunde des Deutschen Reiches 21). BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ (2) geben daher an, daß die Verbreitung des Zwergsteinbrandes mehr im kontinentalen Klimabereich liegt. Da sie andererseits keine Beziehung zwischen der Stärke des Zwergsteinbrandauftretens in verschiedenen Jahren und dem jeweiligen Temperaturverlauf feststellen konnten, wohl aber solche zwischen Niederschlagsmenge und Befallsstärke, scheinen neben der Temperaturabhängigkeit auch noch andere Faktoren mitzuspielen.

Von BÖNING, WAGNER und v. MINCKWITZ (2) und GASSNER und NIEMANN (8) konnte wahrscheinlich gemacht werden, daß diese Eigenart der Verbreitung zu einem Teil in der Keimungsphysiologie der Sporen begründet ist. Infolge der Abhängigkeit der Sporenkeimung des Zwerg- und Roggensteinbrandes von tiefen Temperaturen ist die Voraussetzung für eine Infektion — ein Zusammentreffen empfänglicher Stadien des Wirtes mit infektionsfähigen Stadien des Parasiten — nur unter bestimmten Klima- bzw. Witterungsverhältnissen gegeben. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen darüber hinaus, daß auch die Infektion selbst in gleicher Weise temperaturabhängig ist, da Zwerg- und Roggensteinbrandbefall durch tiefe Temperatur, der Befall durch gewöhnlichen Steinbrand hingegen durch mittlere Temperatur (+ 12 ° C) begünstigt werden.

Nach allem ist es durchaus verständlich, daß der Zwergsteinbrand normalerweise nur an Winterweizen auftritt (BAMBERG 1, HOLTON and SUNESON 11, WARMBRUNN 25): Nur hier sind die Keimpflanzen lange genug tiefen Temperaturen ausgesetzt. Daß es jedoch unter geeigneten Temperaturbedingungen grundsätzlich möglich ist, auch Sommerweizen oder im Frühjahr gesäten Winterweizen künstlich mit Zwergsteinbrand zu infizieren, zeigten unsere Versuche.

b) Bodenübertragung: durch Vermischen von Erde mit Steinbrandsporen und Aufstellung bei einer für die Sporenkeimung geeigneten Temperatur. Nach einiger Zeit wurde das Saatgut in die infizierte Erde eingelegt;

c) Keimlingsinfektion: durch Übersprühen von Getreidekeimlingen bestimmter Länge mit vorgekeimten Steinbrandsporidien.

Gewöhnlicher Steinbrand war bei Anwendung aller drei Infektionsarten auf Weizen zu übertragen. Bei Zwergsteinbrand und Roggensteinbrand konnte nur bei Anwendung der Keimlingsinfektion ein Infektionserfolg erzielt werden.

3. Weizenkeimlinge sind — unter den Bedingungen des Gefäßversuches — nur bis zu einer Länge von höchstens 20 mm empfänglich für die Infektion durch gewöhnlichen Steinbrand oder Zwergsteinbrand. Der stärkste Infektionserfolg war an Keimlingen von etwa 2 mm Länge zu erreichen.

4. Bei Infektion von Weizen mit gewöhnlichem Steinbrand wird stärkster Befall erzielt, wenn die Versuche nach Infektion einige Zeit bei + 12 ° C aufgestellt werden. Einwirkung tiefer Temperatur (+ 2 °) setzt den Steinbrandbefall besonders stark bei Verwendung der Saatgutübertragung, weniger bei Bodenübertragung oder Keimlingsinfektion herab.

5. Bei Keimlingsinfektion von Weizen mit Zwergsteinbrand und Roggen mit Roggensteinbrand wird der Infektionserfolg durch tiefe Temperaturen (+ 2 ° C) begünstigt. Diese beiden Formen verhalten sich also bezüglich der Temperaturabhängigkeit der Infektion gerade umgekehrt wie der gewöhnliche Steinbrand.

6. Zwergsteinbrand ließ sich bei Anwendung geeigneter Infektionsbedingungen auch auf erst im Frühjahr infizierten und ausgepflanzten Winterweizen sowie auf Sommerweizen übertragen.

7. Es wird eine Infektionsmethode angegeben, welche die Durchführung künstlicher Infektionen unter definierten Bedingungen — unabhängig von der Jahreszeit — gestattet.

## Literaturverzeichnis

1. Bamberg, R. H., 1941: Fall-sown spring wheat suceptible of dwarf bunt. Phytopath. 31: 951—952.
2. Böning, K., Wagner, F. und v. Minckwitz, A., 1953: Untersuchungen zur Keimungsbiologie und Beizung der Sporen des Zwergsteinbrandes an Weizen. Z. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz 4: 49—71.
3. Bonne, C., 1931: Untersuchungen über den Steinbrand des Weizens. Angew. Botanik 13: 169—209.
4. Brefeld, O., 1908: Untersuchungen aus dem Gesamtgebiet der Mykologie, XIV. Band. — Die Kultur der Pilze. Münster.
5. Fajersson, F., 1949: Stinksootemgrepp och Växtmiljö. Landmannen, Uppsala 33: 955. Zitiert nach Rev. Appl. Mycol. 29: 294 (1950).

6. FEUCHT, W., 1932: Die Wirkung des Steinbrandes *Tilletia tritici* (Bjerkander) Winter und *Tilletia foetens* (Berkely et Curtis) Tulasne auf verschiedene Winterweizensorten bei künstlicher Infektion in Abhängigkeit von äußeren Faktoren. Phytopath. Z. **4**: 247—290.

7. GASSNER-Höchst, G. G., 1953: Untersuchungen über Keimungsbedingungen und Bekämpfungsmöglichkeiten beim Zwergsteinbrand (*Tilletia brevifaciens*) im Laboratorium. Phytopath. Z. **21**: 53—62.

8. GASSNER, G. und NIEMANN, E., 1954: Untersuchungen über die Temperatur- und Lichtabhängigkeit der Sporenkeimung verschiedener *Tilletia*-Arten. Phytopath. Z. **21**: 367 bis 394.

9. HECKE, L., 1909: Der Einfluß von Sorte und Temperatur auf den Steinbrandbefall. Z. f. landw. Versuchswesen in Österreich **12**: 49—66.

10. HOLTON, C. S., BAMBERG, R. H. and WOODWARD, R. W., 1949: Progress in the study of dwarf bunt of winter wheat in the pacific northwest. Phytopath. **39**: 986—1000.

11. — — and SUNESON, C. A., 1943: Wheat varietal reaction to dwarf bunt in the western region of the United States. J. Americ. Soc. of Agronomy **35**: 579—583.

12. KÜHN, J., 1874: Über die Art des Eindringens des Steinbrandes in die Nährpflanze. Bot. Z. **32**: 121.

13. LAUPERT, B., 1920: Einige Worte über Steinbrandbekämpfung. D. Landw. Presse **47**: 435—436. Zitiert nach FEUCHT (6).

14. LOWTHER, C. V., 1948: Low temperature as a factor in the germination of dwarf bunt chlamydospores. Phytopath. **38**: 309—310.

15. NIEVES, R., 1931: Resistencia comparativa a la *Tilletia levis* Kühn del trigo en la Argentina. Phytopath. **21**: 705—727.

16. OLGYAY, M. v., 1935: Untersuchungen über das Keimen und die Infektionsverhältnisse der Steinbrandsporen (*Tilletia foetens* und *tritici*). Botanikai Közlemények **32**.

17. PICHLER, F., 1950: Über Roggensteinbrand (*Tilletia tritici* f. sp. *secalis*). Pflanzenschutzberichte **5**: 273—286.

18. — —, 1953: Zur Frage der Keimung von Roggen- und Zwergsteinbrandsporen. Pflanzenschutzberichte **11**: 12—17.

19. RABIEN, H., 1927: Über Keimungs- und Infektionsbedingungen von *Tilletia tritici*. Arb. Biolog. Reichsanst. f. Land- u. Forstwirtsch. **15**: 297—353.

20. RADEMACHER, B., 1951: Gegen den Weizensteinbrand. Umschau in Wissenschaft u. Technik **19**.

21. Reichsamt für Wetterdienst, 1939: Klimakunde des Deutschen Reiches. Berlin.

22. VOLKART, A., 1939: Der Roggensteinbrand (*Tilletia secalis* [Corda] Kcke.). Berichte Schweiz. Bot. Ges. **49**: 495—503.

23. WAGNER, F., 1950: Auftreten, Sporenkeimung und Infektion des Zwergsteinbrandes an Weizen. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **1**: 1—14.

24. — —, 1953: Versuche zur Bekämpfung des Zwergsteinbrandes an Weizen mit verschiedenen Bodenbehandlungsmitteln und -verfahren. Pflanzenbau u. Pflanzenschutz **4**: 145—151.

25. WARMBRUNN, K., 1952: Untersuchungen über den Zwergsteinbrand. Phytopath. Z. **19**: 441—482.

26. WOLFF, 1874: Der Brand des Getreides, seine Ursachen und seine Verhütung. Halle Zitiert nach LANG, Z. f. Pflanzenkrh. **27** (1917).

27. WOOLMAN, H. M. and HUMPHREY, H. B., 1924: Studies in the physiology and control of bunt, or stinking smut of wheat. U. S. Dept. Agric. Bull. 1239. Zitiert nach FEUCHT (6).

# Krankheiten und Schädlinge der Kulturpflanzen und ihre Bekämpfung

Für Praxis und Studium

Von

Prof. Dr. H. Braun
Direktor des Instituts für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn

und

Dr. E. Riehm
Präsident i. R. der Biologischen Reichsanstalt für Land- und Forstwirtschaft

*7., neubearbeitete Auflage, 1953. 348 Seiten mit 290 Textabbildungen, broschiert DM 24,80, Ganzleinen DM 26,80*

*„Der Braun-Riehm ist unbestritten das beste deutsche Buch, das einen Überblick über das Gesamtgebiet der Auswirkung von Krankheiten und Schädlingen an unseren Kulturpflanzen gibt, nicht zuletzt durch seine hervorragende Ausstattung mit Bildmaterial, das in der vorliegenden Auflage eine wesentliche Erweiterung und Verbesserung erfahren hat."*
Berichte über die gesamte Biologie

---

# Krankheiten und Schädlinge im Obstbau und ihre Bekämpfung

Von Prof. Dr. W. Kotte
Direktor des Staatlichen Instituts für Pflanzenschutz in Freiburg i. Br.

*2. Auflage, 1948. 337 Seiten mit 213 Textabbildungen und 8 Farbtafeln. In Halbleinen DM 25,60*

Das bewährte Buch gibt jedem, der Obstbau treibt oder in ihm lehrend oder lernend tätig ist, die biologischen und technischen Kenntnisse in die Hand, um den Kampf gegen Krankheiten und Schädlinge durchzuführen und damit höhere und gütemäßig bessere Ernten erzielen zu können.

*„Das Buch stellt doch wohl die beste zusammenfassende Bearbeitung des Gegenstandes dar, die wir zur Zeit haben."* Nachrichtenblatt der Biologischen Bundesanstalt Braunschweig

---

Vom gleichen Verfasser liegt vor:

# Krankheiten und Schädlinge im Gemüsebau und ihre Bekämpfung

*2., völlig neubearbeitete Auflage, 1952.*
*288 Seiten mit 186 Abbildungen und 8 Farbtafeln. In Ganzleinen DM 27,—*

Das Buch des als Wissenschaftler und Praktiker bekannten Autors vermittelt in seiner neuen Auflage in erweiterter Form die notwendigen Kenntnisse zur Erkennung und Bekämpfung von Krankheiten und Schädlingen in den Gemüsekulturen. Die durch die neuzeitlichen Insektengifte und technischen Geräte eröffneten Möglichkeiten werden in ihrer überragenden Bedeutung eingehend gewürdigt.

*„Im neuen Kotte liegt nunmehr wieder ein repräsentatives Handbuch für den fortschrittlichen Gemüsebauer vor, das rückhaltlos empfohlen werden kann."* Pflanzenschutz

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG

# Grundriß der Forstpathologie

Von Prof. Dr. F. Schwerdtfeger

*1950. 210 Seiten mit 139 Abbildungen. In Ganzleinen DM 13,60*

Der „Grundriß" vermittelt einen alles Wesentliche umfassenden Überblick über die Grundtatsachen der Waldkrankheitslehre. Insbesondere macht er mit den wirtschaftlich wichtigen Krankheiten und Schädigungen des Waldes, mit ihrer Entstehung, ihrem Verlauf und ihren Auswirkungen sowie den Möglichkeiten ihrer Verhütung und Bekämpfung eingehend bekannt. Die textliche Darstellung ist kurz und prägnant gefaßt und durch viele instruktive Abbildungen unterstützt. Wer sich rasch und gründlich über die einschlägigen Fragen orientieren will, wird dieses reich illustrierte Buch gern zur Hand nehmen.

*„Das außerordentlich weitläufige und mit unendlich viel Einzeltatsachen belastete Gesamtgebiet des Forstschutzes ist hier in einer abgerundeten und umfassenden Darstellung sehr gewandt behandelt. Dank sehr klarer Begriffsbildung und eines meisterhaften Stils ist mit wenigen Zeilen jeweils das Wichtigste gesagt."* Forstwissenschaftliches Centralblatt

---

# Nematoden der Kulturpflanzen Europas

Von Dr. H. Goffart

*1951. 144 Seiten mit 91 Abbildungen. In Ganzleinen DM 18,—*

Das Buch stellt eine moderne und umfassende deutschsprachige Veröffentlichung auf dem Gebiet der Nematodenforschung dar. Praxis und Wissenschaft erhalten durch dieses auf Grund jahrzehntelanger Beobachtungen geschaffenen Werkes eine klare Übersicht über die wichtigsten Arten der Nematoden und die durch sie hervorgerufenen Schäden an den verschiedenen Kulturpflanzen. Ein ausführliches Schrifttumsverzeichnis sowie alphabetische Zusammenstellungen der berücksichtigten Pflanzen und der aufgeführten Nematoden erhöhen die Übersichtlichkeit dieses hervorragend ausgestatteten und mit zahlreichen Zeichnungen und Abbildungen versehenen Werkes.

*„So sind Gründlichkeit, klarer und übersichtlicher Aufbau ein Kennzeichen dieses Buches, das den Niederschlag der 25jährigen Forschungsarbeit und praktischen Erfahrung eines unserer besten Nematodenspezialisten darstellt. Das Buch ist insbesondere für alle im Pflanzenschutz Tätigen, aber auch für den interessierten Landwirt, Pflanzenzüchter und Biologen eine willkommene Bereicherung seiner Fachliteratur. Es sollte deshalb in keiner Handbibliothek fehlen."* Nachrichtenblatt des deutschen Pflanzenschutzdienstes, Braunschweig

*„Goffart hat es verstanden, ein Nachschlage- und Bestimmungsbuch zu schaffen, welches alles Überflüssige vermeidet und dafür das Wesentliche klar und eindringlich für Fachkreise zusammenfaßt."* Berichte über die gesamte Biologie

VERLAG PAUL PAREY / BERLIN UND HAMBURG


---


Verlag Paul Parey, (1) Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47 (West-Berlin), Tel. 61 44 68/69. Herausgeber Prof. Dr. Dr. h. c. G. Gassner, (20 b) Braunschweig, Humboldtstraße 1, Prof. Dr. E. Gäumann, Zürich 6, Universitätsstr. 2 und Prof. Dr. M. Klinkowski, Aschersleben, Ermslebener Str. 52. Printed in Germany. Druck von A. W. Hayn's Erben, Berlin SO 36 (West-Berlin).


Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des auszugsweisen Nachdrucks und der photomechanischen Wiedergabe, vorbehalten.


— Erscheinungsweise: Jährlich etwa 6 bis 8 Hefte (4 Hefte = 1 Band).